

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
DOUTORADO EM AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO

**TEOR DE NITRATO E NITRITO E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM
LINGUIÇAS E QUEIJOS**

Fernanda Scherer Adami

Lajeado, novembro de 2015

Fernanda Scherer Adami

TEOR DE NITRATO E NITRITO E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM LINGUIÇAS E QUEIJOS

Tese apresentada para banca do Doutorado em Ambiente e Desenvolvimento, do Centro Universitário UNIVATES, para obtenção do título de Doutor em Ambiente e Desenvolvimento.

Professora orientadora: Dra. Eniz Conceição Oliveira

Lajeado, novembro de 2015

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho especialmente à minha filha, Giovana Scherer Adami, e ao meu esposo, Gustavo Adami. Sem esquecer jamais da minha maior inspiração, uma grande incentivadora para que eu seguisse a profissão de professora e me aperfeiçoasse sempre, minha mãe, Guertrud Scherer (*in memoriam*), que foi um exemplo de pessoa, de mãe e de profissional.

AGRADECIMENTOS

Muito especialmente, desejo agradecer à minha orientadora professora Eniz Conceição Oliveira, pela disponibilidade, atenção dispensada, paciência, dedicação e profissionalismo. Considero de extrema importância a relação de confiança que estabelecemos nestes quase quatro anos; agradeço por ter tido a oportunidade de conhecer além de uma profissional exemplar, um ser humano de caráter e retidão. E ao Grupo de Pesquisa em Ambiente e Alimentos da Univates.

À minha filha, Giovana Scherer Adami, pelo tempo que não estive presente em função deste projeto, ao meu esposo, Gustavo Adami, pelo incentivo, compreensão e encorajamento durante todo este período.

À minha família, em particular, ao meu pai e a minha irmã que sempre acreditaram no meu sonho e à minha mãe (*in memoriam*) que me acompanha e me inspira frente aos desafios que vida impõe, além de ter sido a principal responsável pela minha educação.

À Dra. Simone Morelo Dal Bosco, pelo incentivo para participar da seleção deste doutorado.

À Dra. Flávia Moraes Silva, que disponibilizou do seu precioso tempo para leitura da minha tese e colaborou com sugestões importantes.

Aos meus colegas de Doutorado, pelos momentos de entusiasmo compartilhados em conjunto.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram e comigo conviveram durante estes anos. A todos vocês, o meu muito obrigado.

RESUMO

A utilização de sais de nitrato e nitrito em produtos cárneos é secular e, com a evolução das técnicas de conservação alimentar, estes vêm sendo cada dia mais utilizados, pois melhoram o sabor e a cor. Os objetivos deste estudo foram realizar análises microbiológicas, de atividade de água, pH, concentração de nitritos e nitratos presentes em amostras de linguiças (tipo mistos e suínos) com Inspeção do Serviço Municipal e queijos (tipo colonial e prato), fiscalizados pelos Serviços de Inspeção Municipal e Estadual, produzidos na região do Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. As amostras de queijos Prato (n=14) e Colonial (n=10) foram adquiridas diretamente nas indústrias com Inspeção Sanitária Municipal (n=11) e Estadual (n=13), produzidas em municípios do Vale Taquari durante os meses de abril, maio e junho de 2013. Para a coleta das amostras houve o cuidado de mantê-las íntegras, com o mínimo de contato ou manipulação. As amostras de linguiça foram coletadas em 11 estabelecimentos fiscalizados pelo Sistema de Inspeção Municipal (SIM). Os teores residuais de nitratos e nitritos, pH e atividade de água das amostras foram avaliados segundo as metodologias analíticas oficiais previstas na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). As análises microbiológicas foram realizadas em laboratório certificado no Ministério da Agricultura (MAPA), na Rede Metrológica do Rio Grande do Sul, cadastrado na Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) e com ISO 17025. As concentrações de nitrato e nitrito encontradas acima do recomendado pela legislação nas amostras foram de 33,3% ($p=0,030$) e 100% ($p<0,001$), respectivamente. Em 41,7% (n=10) e 25% (n=6) do total das amostras de queijo foram encontrados índices de contaminação por coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva* acima do preconizado pela legislação, respectivamente, contudo não foi verificada diferença significativa para os valores encontrados em relação ao valor de referência, e 100% das amostras de queijo estavam isentas de *Salmonella spp.* Em relação as linguiças, 30,3% das amostras apresentaram teor de nitrito e 69,7% apresentaram teor de nitrato acima do previsto pela legislação brasileira. As médias de atividade de água e do teor de nitrato apresentaram-se significativamente acima do valor de referência. Enquanto as médias de pH não demonstrou diferença significativa em relação ao valor de referência e a média de nitrito apresentou-se inferior a legislação, mas com elevado desvio padrão. Concluiu-se que a totalidade das amostras de queijo analisadas neste estudo apresentou concentrações acima do recomendado pela legislação para nitrito e um terço apresentou-se não conforme em relação à concentração de nitrato. Sobre a linguiça, foi observada inadequação ao que é determinado pela legislação brasileira em relação à quantidade de nitrito e

nitrito, parâmetros microbiológicos de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella spp.*, atividade de água, e adequação em relação ao pH.

Palavras-chave: Microbiologia. Nitrito. Conservantes de Alimentos. Queijo. Produtos cárneos.

ABSTRACT

The use of nitrate and nitrite salts in meat products is centuries old and with the development of food preservation techniques they are being more used every day because it improves flavor and color. The objective of this study were to perform the microbiological analysis, and also analysis of water activity, pH, concentration of nitrites and nitrates in sausage samples (mixed type and pigs) with inspection of the Municipal Service, and cheese (colonial type and plate), supervised by Service Municipal and State Inspection, produced in the region of Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. The sample of plate cheese (n=14) and colonial (n=10) were acquired directly in industries with Municipal Sanitary Inspection (n=11) and State (n=13), produced in municipalities in the Taquari Valley during the months of April, May and June 2013. The samples were collected with care to keep them intact and a minimal contact or manipulation. The sausage samples were collected from 11 establishments inspected by the Municipal Inspection System. The samples' residual levels of nitrates and nitrites, pH and water activity were evaluated according to the official analytical methods provided by the Normative Ruling No. 20 of July 21, 1999, of Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. The microbiological analyzes were performed in laboratory certified by Ministry of Agriculture in the Metrology Network of Rio Grande do Sul, registered in the State Environmental Protection Foundation, with ISO 17025. The nitrate and nitrite concentrations found above the recommended by the legislation in the samples was 33.3% ($p=0.030$) and 100% ($p < 0.001$), respectively. In 41.7% ($n = 10$) and 25% ($n = 6$) of the total samples of cheese contamination rates were found by thermotolerant coliform and *Staphylococcus coagulase positive* above recommended by law, respectively, but there was no significant difference to those found in relation to the reference value and 100% of cheese samples were free of *Salmonella spp.* In relation to the sausages, 30.3% of the samples had nitrite content and 69.7% had nitrate levels higher than expected by Brazilian law. The average of water activity and nitrate levels were significantly above the reference value. While the average of pH showed no significant difference from the reference value and the nitrite average has performed under law, but with high standard deviation. It is concluded that all the cheese samples analyzed in this study had higher concentrations than recommended by law for nitrite and a third it is not in accordance to the concentration of nitrate. Regarding the sausage, it was observed inadequacy in relation to what is required by Brazilian law in relation to the amount of nitrite and nitrate, microbiological parameters of thermotolerant coliform, *Staphylococcus coagulase positive* and *Salmonella spp.*, water activity and suitability in relation to the pH.

Keywords: Food Microbiology. Sodium Nitrite. Food Preservatives. Cheese. Meat Products.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reações envolvendo os íons nitrato e nitrito	20
Figura 2 - Formação de metemoglobinemia pelo nitrito e sua conversão à hemoglobina	23
Figura 3 - Fluxograma do procedimento experimental para a determinação de nitratos e nitritos	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação dos níveis de nitrato, nitrito, coliformes termotolerantes, <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> de queijos produzidos no Vale Taquari (RS) com as quantidades máximas preconizadas pela legislação (n=24)	39
Tabela 2 - Quantificação de nitrato, nitrito, coliformes termotolerantes, <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> , pH e atividade de água de queijos produzidos no Vale do Taquari (RS) de acordo com o tipo de inspeção (n=24)	40
Tabela 3 - Coliformes termotolerantes e <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> em queijos produzidos no Vale do Taquari (RS) de acordo com o tipo de Inspeção (n=24)	40
Tabela 4 - Coliformes termotolerantes, <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> , pH de acordo com o tipo de queijo produzido no Vale do Taquari (RS) (n=24)	41
Tabela 5 - Concentração de nitrito e nitrato em mg/kg nas diferentes amostras de linguiças produzidas no Vale do Taquari (RS) (n=33)	45
Tabela 6 - Concentração de nitrito e nitrato em amostras de linguiças de acordo com o tempo de armazenagem (n=33)	45
Tabela 7 - Comparação entre as médias de pH, nitrito, nitrato e atividade de água com os valores de referência em linguiças produzidas no Vale do Taquari (RS) (n=33)	46
Tabela 8 - Comparação de coliformes termotolerantes, <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> e <i>Salmonella spp.</i> com o valor de referência em linguiças produzidas no Vale do Taquari (RS) (n=11)	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFAQ	<i>Association For Academic Quality</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CISPOA	Coordenadoria de Inspeção de Produtos de Origem Animal
DASH	<i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i>
DCV	Doenças Cardiovasculares
FAO/OMS	Organização Mundial da Saúde
FEPAM	Fundação Estadual de Proteção Ambiental
IDA	Ingestão Diária Aceitável
IMC	Índice de Massa Corporal
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS	Ministério da Saúde
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
pH	Potencial hidrogeniônico
RS	Rio Grande do Sul
RTIQ's	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
SIM	Sistema de Inspeção Municipal
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SPSS	<i>Software Statistical Package for Social Sciences</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.2 Objetivos.....	15
1.2.1 Objetivo geral.....	15
1.2.2 Objetivos específicos.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Adição de nitrito e nitrato em queijos	17
2.2 Adição de nitrito e nitrato em embutidos cárneos.....	18
2.3 Metemoglobinemia e efeito carcinogênico do consumo de nitrito e nitrato	22
2.4 Contaminação microbiológica, atividade de água e pH de queijos e linguiças.....	26
2.5 Benefícios cardioprotetores do consumo de nitrito e nitrato na saúde humana.....	30
3 METODOLOGIA.....	33
3.1 Tipo de estudo	33
3.2 Procedimentos	33
3.2.1 Amostras de queijos e linguiças.....	33
3.2.2 Análises físico-químicas dos queijos e das linguiças.....	35
3.2.3 Análise microbiológica dos queijos e das linguiças	37
3.3 Análise estatística.....	37
3.4 Critérios éticos	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1. Análises de amostras de queijos produzidos no Vale Taquari	38
4.2. Análises de amostras de linguiças produzidas no Vale Taquari	44
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
6 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS	52
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICES	63
APÊNDICE A - Produção gerada.....	64
APÊNDICE B - Artigos submetidos	65

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a região do Vale do Taquari é composta pelos municípios de Anta Gorda, Arroio do Meio, Arvorezinha, Bom Retiro do Sul, Canudos do Vale, Capitão, Colinas, Coqueiro Baixo, Cruzeiro do Sul, Dois Lajeados, Doutor Ricardo, Encantado, Estrela, Fazenda Vilanova, Forquetinha, Ilópolis, Imigrante, Lajeado, Marques de Souza, Muçum, Nova Bréscia, Paverama, Poço das Antas, Pouso Novo, Progresso, Putinga, Relvado, Roca Sales, Santa Clara do Sul, São Valentim Do Sul, Sério, Tabaí, Taquari, Teutônia, Travesseiro, Vespasiano Corrêa e Westfália (HENDLER, 2012).

No Vale do Taquari prevaleceram as pequenas propriedades que surgiram no Rio Grande do Sul com a chegada dos primeiros colonizadores alemães, em 25 de julho de 1824. O processo migratório se alastrou até o final do século XIX, sendo que, a partir de 1875, predominou a etnia italiana. O sistema produtivo trouxe uma nova visão de trabalho representado pela mão de obra familiar que produzia o queijo assim como outros alimentos para o seu sustento e venda dos excedentes, contrastando com o modelo escravista que reinava no Brasil nas grandes propriedades (AHLERT, 2001). Essa forma produtiva, apesar de ter sofrido mudanças desde os primórdios ainda mantém suas principais características.

Os embutidos cárneos foram introduzidos no Brasil principalmente pelos italianos e alemães que mesclaram suas culturas, eles armazenavam o produto por até um ano, sendo que era considerado um alimento barato, duradouro e que podia ser consumido quando havia escassez de outras carnes frescas. O produto era armazenado no porão das casas, juntamente com os queijos e vinhos, criando assim um conjunto inigualável de aromas gastronômicos (AHLERT, 2001).

O crescimento contínuo da população mundial trouxe a necessidade de um aumento constante na produção de alimentos, assim como uma conservação mais eficiente dos mesmos (BISWAS; CHOWDHURY; RAY, 2004). A população deve ter ao seu alcance alimentos de boa qualidade, dentro de padrões pré-estabelecidos, não só em valores nutritivos, como, também, quanto às condições higiênicas, que propiciem segurança para a saúde do consumidor (CORREIA; RONCADA, 1997). Os aditivos têm a finalidade de conservar, intensificar ou modificar as propriedades dos alimentos, desde que não prejudiquem seu valor nutricional. Estes aditivos podem ser legalmente adicionados aos alimentos, desde que atendam à legislação (MOREAU; SIQUEIRA, 2008). A utilização de sais de nitrito e nitrato em produtos cárneos é secular e, com a evolução das técnicas de conservação alimentar, estes vêm sendo cada dia mais utilizados, pois, além do melhoramento no aspecto de sabor e cor, eles têm ação preventiva na germinação e proliferação de esporos de algumas bactérias, além de serem antioxidantes, ou seja, aumentam o tempo de conservação do produto (MARTINS; GRANER, 2008).

Os nitratos estão amplamente distribuídos no solo, água e vegetais. A exposição diária da população em geral ao nitrato e nitrito é influenciada tanto pelos hábitos culturais como pelo estilo de vida e localização geográfica (ANDRADE, 2004). Porém há certos queijos que não contém esse tipo de aditivo como os queijos de alta umidade que tem no mofo seu grande atrativo ou pela legislação proibitiva em diversos países (PERRY, 2004). É importante ter o controle da quantidade recomendada deste aditivo, já que, em excesso, torna-se tóxico e pode levar certas pessoas a desenvolver algum tipo de câncer. Há poucos estudos ainda sobre os danos que os nitritos e nitratos podem ocasionar em nosso organismo, mas já se sabe que adição de sais de nitritos causam toxicidade e que está associado à formação de nitrosaminas, reconhecidas como substâncias potencialmente cancerígenas (DUARTE, 2010).

O câncer é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo, com aproximadamente 14 milhões de novos casos e responsável por 8,2 milhões de mortes em 2012. Sabe-se que um terço das mortes por câncer estão associadas a fatores de risco como Índice de Massa Corporal (IMC) elevado, baixa ingestão de frutas e legumes, inatividade física, tabagismo e consumo de álcool. A estimativa é de que o número de novos casos aumente cerca de 70% nos próximos 20 anos. Mais de 60% do total de casos novos anuais do mundo ocorrem na África, Ásia e América Central e do Sul. Estas regiões são responsáveis por 70% das mortes por câncer do mundo. Os cinco tipos de câncer mais frequentes entre os

homens em 2012 foram os de pulmão, próstata, colorretal, estômago e fígado, enquanto entre as mulheres foram os de mama, colorretal, pulmão, colo do útero e estômago (WHO, 2015).

O nitrito quando está presente no organismo, especialmente no infantil, age sobre a hemoglobina, oxidando o íon ferro (II) e íon ferro (III), impedindo assim a função normal da hemoglobina de transportar oxigênio, doença conhecida como metemoglobinemia, que pode levar a anóxia e morte (SANTOS et al., 2005). A metemoglobinemia, também conhecida como síndrome do bebê azul, é uma causa rara de cianose na faixa pediátrica, caracterizada pela presença de uma concentração sérica de meta-hemoglobina superior a 2% (MOHOROVIC; MATERLJAN; BRUMINI, 2010; SANCHEZ-VALVERDE et al., 2013).

Dentre os produtos alimentícios que apresentam concentrações de nitrito e nitrato, destacam-se os embutidos. Atualmente observamos um aumento no consumo de embutidos e produtos lácteos entre os brasileiros principalmente em cidades interioranas (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORG, 2005). A produção da linguiça envolve várias etapas de manipulação, com isso aumentando as possibilidades de contaminação por diversas espécies de microrganismos, patógenos ou deterioradores, comprometendo a qualidade deste alimento (BRASIL, 2001). Isso também acontece na produção de queijos obtidos através da coagulação do leite por meio de coalho, podendo ser complementado ou não por ação de bactérias lácteas (MARQUES et al., 2006). O leite muitas vezes é obtido de localidades com condições higiênico-sanitárias deficientes, aumentando os riscos de contaminações (BRASIL, 1996).

É comum encontrar a produção desses alimentos em pequenas indústrias, que muitas vezes não conhecem ou não adotam as boas práticas de fabricação, não garantindo, assim, a segurança microbiológica e padronização de qualidade do alimento (CATÃO; CEBALLOS, 2001). Entre esses contaminantes pode-se destacar os microrganismos patogênicos como a *Salmonella spp.* e toxina estafilocócica (FEITOSA et al., 2003). A *Salmonella spp.* é uma bactéria que pode causar toxinfecções alimentares, normalmente é encontrada no trato intestinal de animais de sangue quente, especialmente as aves, e tem como principal veículo de disseminação os alimentos e a água (CORREIA; RONCADA, 1997; CATÃO; CEBALLOS, 2001). Outro agravante são os coliformes termotolerantes que indicam a contaminação de origem fecal recente do produto, sendo que a detecção de elevado número destas bactérias em um alimento, inclusive em processados, é interpretada como possível presença de patógenos intestinais (HOFFMANN et al., 1996). A contaminação microbiana

desse produto assume destacada relevância para a saúde pública, pelo potencial risco de causar doenças transmitidas pelo alimento (CATÃO; CEBALLOS, 2001).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Determinar a concentração de nitratos, nitritos, atividade de água, pH e realizar análise microbiológica, em amostra de linguiças e de queijos produzidos na região do Vale do Taquari (RS).

1.2.2 Objetivos específicos

- Determinar a quantidade de nitrito e nitrato em linguiças com Inspeção do Serviço Municipal e queijos fiscalizados pelos Serviços de Inspeção Municipal e Estadual;
- Realizar análise microbiológica e determinar a atividade de água e o pH das amostras de linguiças e queijos;
- Verificar se a análise microbiológica, adição de nitrito e nitrato, pH e atividade de água dos produtos estão de acordo com a legislação Brasileira;
- Relacionar o resultado da análise da concentração de adição do nitrito e nitrato com a presença de microrganismos patogênicos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O consumo de produtos industrializados vem crescendo em meio às mudanças no estilo de vida da população. O tempo mais escasso para preparar refeições frescas acaba por aumentar, cada vez mais, o consumo de alimentos processados e industrializados. O preço acessível destes produtos se torna uma opção de consumo para indivíduos de todas as classes sociais. Os embutidos são os produtos industrializados dentre os de maior consumo e produção. Desde a década de 90, o aumento da produção dos mesmos vem sofrendo acréscimo visível (MELO FILHO; BISCONTINI; ANDRADE, 2004; OLIVEIRA; ARAÚJO; BORG, 2005). O motivo para o crescimento da produção industrial de alimentos também está caracterizado pelo aumento da compra/procura, nesta mesma época a população passou por uma transição econômica e a aquisição de produtos industrializados se tornou mais acessível (TADDEI et al., 2011), ao mesmo tempo em que a colonização na região do Vale do Taquari é caracterizada por uma população de origem Alemã e Italiana, sendo que uma das características de seus costumes é a própria produção de alimentos, em especial os embutidos (SCHIERHOLT, 2012).

A adição de sais aos produtos industrializados é permitida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e demais órgãos de fiscalização (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORG, 2005). Estes sais possuem a função de conservar, agregar cor e sabor, além de serem antimicrobianos e antioxidantes. Dentre os sais utilizados pelas indústrias cita-se o nitrito e o nitrato de sódio e potássio, conservantes responsáveis por evitar a proliferação de

microrganismos ou de enzimas que possam provocar transformações químicas capazes de causar alterações graves nos alimentos (DUARTE, 2010). Eles são utilizados pela indústria alimentícia contra microrganismos butíricos (JAY; TONDO, 2005).

2.1 Adição de nitrito e nitrato em queijos

Os sais de nitrato de sódio e potássio são utilizados na indústria láctea por possuírem ação que inibe as bactérias esporuladas do grupo butírico, principalmente *Clostridium butyricum* e *Clostridium tyrobutyricum*, responsáveis pelo estufamento tardio dos queijos (FURTADO, 1999), portanto, não são apropriados para o controle de *Clostridia*. O nitrato adicionado é reduzido a nitrito, pela ação da xantina oxidase, durante a maturação (PERRY, 2004). O lactato é fermentado pela presença destas bactérias, produzindo ácido butírico, gás carbônico e hidrogênio, responsáveis pela formação de olhaduras grandes e irregulares dentro do queijo, trincas na casca, alteração de sabor, com prejuízos à indústria láctea (FURTADO, 1999). O nitrito possui ação inibidora sobre as bactérias esporuladas do grupo butírico, principalmente em relação ao seu crescimento e germinação. Esta ação ocorre em função do acúmulo de peróxido de hidrogênio, proveniente da reação de formação de nitrosomioglobina (ANTÓN; LIZASO, 2001); já o nitrito pode reagir com aminoácidos aromáticos do queijo, formando nitrosaminas, muitas das quais podem ser carcinogênicas. Essa reação, porém, ocorre preferencialmente na faixa entre pH 2 a 4,5, de modo que a maioria dos queijos, onde o pH é mais alto, a formação de nitrosaminas é muito lenta. A maior parte do nitrato adicionado é eliminado através do lactosoro, ou difunde-se a salmoura, fazendo com que os níveis de nitrito encontrados no queijo pronto para o consumo sejam, geralmente, bem menores que 50 mg/kg. Mesmo assim, em alguns países o uso de nitratos na fabricação de queijos é proibido. A adição de excesso deste sal pode inibir a flora láctea, dificultando a maturação do produto e alterando sua cor e sabor. A cor dos queijos está intimamente ligada à gordura do leite e, por isso, sujeita a variações sazonais que são corrigidas pela adição de corantes (PERRY, 2004).

No Brasil, a adição de nitrato de sódio ou potássio em queijos é permitida, com exceção daqueles classificados como de alta umidade (46,0 a 54,9% m/m) ou muito alta umidade (maior ou igual a 55,0% m/m), até um limite máximo de 50 mg/kg, quantificados como nitrato de sódio ou potássio, isolados ou combinados. Para os nitritos, o critério de aceitação é ausência, independentemente do teor de umidade do queijo (BRASIL, 1996). O

uso de sais de nitrato em queijos dependem do pH, teor de sal e umidade, além do nível de contaminação inicial do leite. Para ocorrer a redução do nitrato para nitrito no queijo é necessária a ação da enzima xantina oxidase, a qual é inativada se o leite for aquecido a temperaturas superiores a 80°C por 10 segundos. Entretanto, o uso desses sais ainda é uma necessidade tecnológica no Brasil (GONÇALVES et al., 2011).

A norma regulamentadora do queijo Prato é a Portaria nº 358, que o classifica como queijo de média umidade (BRASIL, 1997). O queijo colonial pode ser classificados como queijos magros a semi-gordos, segundo a Portaria nº 146, de 07 de março de 1996, baseando-se no regulamento técnico de identidade e qualidade dos queijos. Com relação à umidade, os queijos apresentam níveis baixos, segundo a mesma portaria (BRASIL, 1996).

Os queijos são derivados do leite e muito suscetíveis à contaminação, devido aos vários processos envolvidos na sua fabricação: pasteurização do leite, coagulação, corte do coágulo, dessoragem, enformagem, salga, maturação (quando necessário) e embalagem. E no caso da Mussarela, ainda se inclui a fase de filagem (GONTIJO; BRANCO, 1998). Devido a sua rica composição em nutrientes, estes produtos podem apresentar contaminações por microrganismos, inclusive patogênicos. Dentre as bactérias que podem crescer em queijos destacam-se, principalmente, os coliformes totais e termotolerantes, o *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella*, sendo a presença e o número destes microrganismos indicadores da qualidade do produto (SALVADOR et al., 2001). Portanto enfatiza-se a importância do cumprimento de normas relativas às boas práticas de fabricação, armazenamento e comercialização a fim de se obter produtos com boa qualidade sensorial e adequada qualidade higiênico-sanitária (CASTRO et al., 2012).

2.2 Adição de nitrito e nitrato em embutidos cárneos

A linguiça é um produto cárneo obtido a partir das aparas dos cortes comerciais de carcaças (DIAS; DUARTE, 2007). De acordo com a legislação brasileira a linguiça: “é o produto cárneo industrializado obtido de carnes de animais de açougue, adicionado ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial e submetido ao processo tecnológico adequado” (BRASIL, 2000, p. 4).

Na elaboração da linguiça pode ser utilizada carne bovina, suína ou de aves, bem como suas vísceras, podendo ser cozida ou não, curada, maturada e dessecada (BRASIL, 2000). As formulações estabelecidas garantem o sabor e a economicidade dos produtos, aspectos importantes para a aceitação dos consumidores (DIAS; DUARTE, 2007).

Dentre os produtos cárneos embutidos a linguiça do tipo frescal destaca-se por sua aceitação e comercialização. O processo de produção utiliza carnes de animais de açougue, adicionadas ou não de tecidos adiposos, e o processamento pode ocorrer em estabelecimentos de micro, pequeno, médio e grande porte. Ao processo, agregam-se aditivos utilizados para melhorar as características sensoriais do produto (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORG, 2005).

A linguiça frescal não sofre nenhum tratamento térmico que reduza a microbiota, possui também elevada atividade de água, tendo então uma vida-útil curta, a qual está diretamente ligada à carga microbiana resultante das diferentes contaminações, apesar da utilização do frio (MILANI, 2003) e apresenta, como características físico-químicas, umidade máxima de 70%, gordura máxima de 30% e proteína mínima de 12% (BRASIL, 2000). De acordo com a Legislação Brasileira para embutidos não submetidos ao cozimento, como é o caso da linguiça frescal, é permitida a adição de água ou gelo até o máximo de 3% na formulação, calculada sobre o total dos componentes e com a finalidade de facilitar a trituração e homogeneização da massa (POPPER et al., 2000).

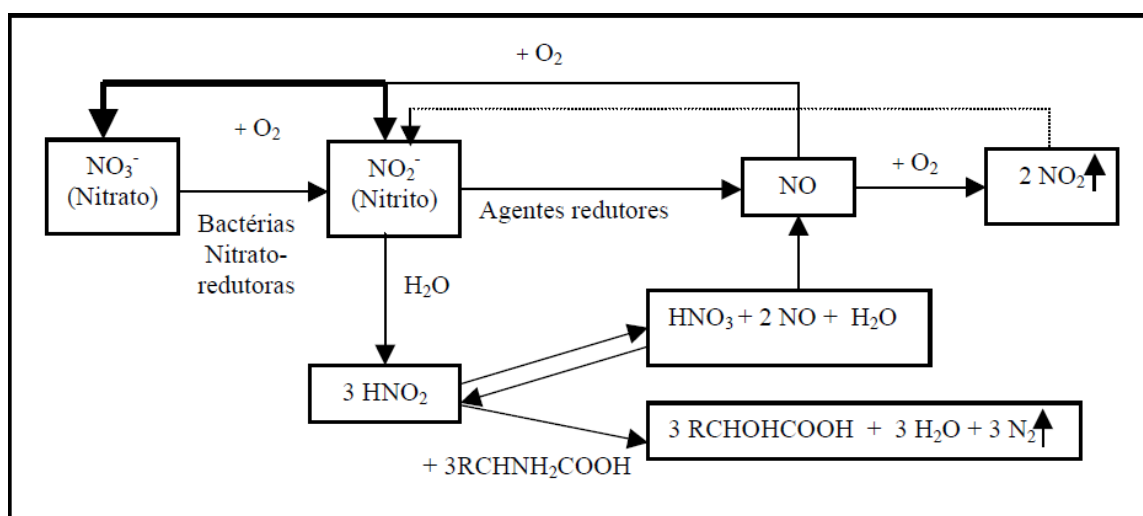
Sua obtenção requer uma série de etapas de manipulação, o que eleva as possibilidades de contaminação por uma gama de espécies de microrganismos, patogênicos ou deterioradores, podendo comprometer a qualidade microbiológica do produto final. Diversas podem ser as fontes de introdução destes agentes na cadeia alimentar, como condições inadequadas de abate e evisceração, nas quais as carcaças podem ser contaminadas por enterobactérias presentes no trato gastrointestinal (TUTENEL et al., 2003). O colaborador envolvido na produção, bem como equipamentos e utensílios, podem ser importantes fontes de contaminação, quando inadequadamente higienizados (CHEVALLIER et al., 2006).

O processo requer adição de sais de cura, recurso que permitirá ao alimento produzido em escala industrial atingir os parâmetros característicos de qualidade sensorial, como sabor, cor, aroma, textura e a preservação do produto (TAKAHASHI, 1993). As quantidades máximas recomendadas pela legislação brasileira para produtos cárneos embutidos são: 0,015 g/100 g para nitritos e 0,03 g/100 g de nitratos (BRASIL, 1998).

Os sais de nitrato e nitrito são adicionados em alimentos industrializados, no processo de cura de carnes, juntamente com o sal, açúcar, temperos e outros ingredientes, buscando a fixação da cor, sabor, aroma e melhoria no rendimento (ARAÚJO, 1999). O pH deve ser suficientemente ácido para facilitar a produção de óxido de nitrogênio a partir do nitrito que combinado com a mioglobina produzirá a coloração rósea típica da linguiça (COVENTRY; HICKEY, 1991).

O nitrito de sódio ou potássio é utilizado em produtos cárneos para preservar o aroma, como componente microbiano e fixar a cor avermelhada, característica de produtos curados. Os pigmentos heme são responsáveis pela cor dos produtos cárneos, devido à sua conformação química e concentração (CLYDESDALE; FRANCIS, 1976). A Figura 1 apresenta as reações envolvendo os íons nitrito e nitrato, para a compreensão da formação da estabilidade da cor dos produtos curados.

Figura 1 - Reações envolvendo os íons nitrato e nitrito

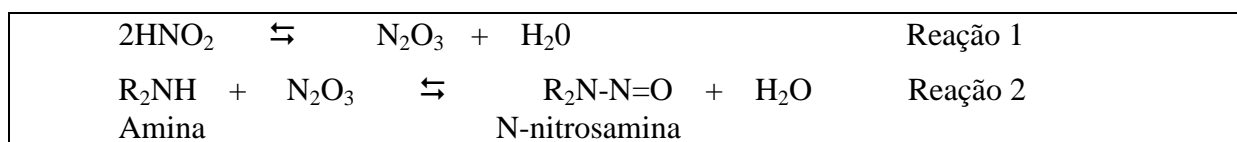


Fonte: Price e Scheweigert (apud ANDRADE, 2004).

Pode-se adicionar o nitrito diretamente ao alimento ou ele ser obtido a partir da reação de redução do nitrato através da ação de bactérias redutoras. A adição de nitrato é empregada somente em processos de cura longa. O óxido nítrico (NO) pode ser obtido de três maneiras diferentes: pela ação de agentes redutores, pela ação redutora dos tecidos e pela decomposição do ácido nítrico (HNO₃). Os sais de ácido ascórbico (agentes redutores), dos elétrons ao nitrito, levam à formação de óxido nítrico, sendo esta a principal rota de obtenção deste óxido nos processos de cura comerciais (CLYDESDALE; FRANCIS, 1976).

Chamam-se nitrosaminas compostos N-nitrosos, que podem reagir com grupos orgânicos (alquila ou arila). Os compostos N-nitrosos são produzidos através de reações químicas entre compostos orgânicos nitrogenados e um agente nitrosante. Em sistemas alimentícios o agente nitrosante mais importante é o anidrido nitroso (N_2O_3), produzido a partir do íon nitrito em meio ácido (ANDRADE, 2004). Apesar de serem inativos, o ácido nitroso (HNO_2) e o íon nitrito, podem formar espécies nitrosantes ativas, através de diversos equilíbrios químicos. O pH da amina influencia na reação de nitrosação e o pH ótimo situa-se entre 2,5 e 3,5 (DUARTE, 2010).

O anidrido nitroso reage com a amina secundária, através do par de elétrons não compartilhado do nitrogênio, para formar a N-nitrosamina (FRIDMAN; MUKHAMETSHIN; NOVIKOV, 1971).



Algumas substâncias atuam como inibidoras da reação de formação de N-nitrosaminas nos alimentos, tais como: taninos, compostos fenólicos e vitaminas C, E e A. O ácido ascórbico e o α -tocoferol são os inibidores mais importantes, pois encontram-se presentes naturalmente em alguns alimentos (CLYDESDALE; FRANCIS, 1976).

Além das aminas secundárias e terciárias, os compostos quartenários de amônia também reagem com os nitritos, formando N-nitrosaminas em meio ácido. O isoascorbato possui ação inibitória contra formação de N-nitrosaminas (JAY; TONDO, 2005). Os lactobacilos, enterococos, clostrídios e outras bactérias propiciam a reação de aminas secundárias com nitritos em ambientes com pH neutro (HECHELMAN; LEISTNER, 1969).

A concentração de nitrito em carnes cai sensivelmente durante o processo de aquecimento e armazenamento, esta diminuição ocorre mais em altas temperaturas do que em baixas temperaturas de armazenamento. A atividade antibutírica do nitrito depende do pH, da concentração salina, da temperatura de incubação e do número inicial de esporos. Esporos danificados são mais sensíveis à inibição pelo nitrito. Este é mais eficiente sob menores potenciais de oxirredução do que em altos (JAY; TONDO, 2005).

O principal organismo a ser evitado quando se utiliza nitrito como conservante é o *Clostridium Botulinum*, mas em altas dosagens ele pode ser eficaz contra o *Staphylococcus*

aureus, e sua eficácia aumenta à medida que o pH diminui. Ele normalmente também é eficaz contra enterobactérias, incluindo a *Salmonella*, ou contra bactérias lácteas (JAY; TONDO, 2005). Os sais de cura em carnes semiconservadas são mais eficazes na inibição de esporos danificados pelo calor (ROBERTS; INGRAM, 1966; DUNCAN; FOSTER, 1968).

2.3 Metemoglobinemia e efeito carcinogênico do consumo de nitrito e nitrato

Os teores de nitritos e nitratos em alimentos devem respeitar a ingestão diária de alimentos conforme é preconizada no Brasil e em todo Mercosul, são os mesmos da FAO/OMS, ou seja, de 0,06 mg/kg/dia de nitrito (como íon) e de 3,7 mg/kg/dia para nitrato, ressaltando que a Ingestão Diária Aceitável (IDA) não deve ser aplicada às crianças menores de 3 meses de idade. Alimentos destinados às crianças com menos de 6 meses de idade não podem conter nitrito como aditivo (WHO, 1996).

Após o consumo de nitrito e nitrato, estes produzem no trato digestório, os N-nitrosos e nitrosaminas. Estes compostos, quando consumidos em altas quantidades, produzem no organismo características tóxicas, cancerígenas, mutagênicas, teratogênicas e metemoglobinemia (ARAÚJO; RODRIGUES, 2008; DUTRA; RATH; REYES, 2007; GUERREIRO; SÁ; RODRIGUES, 2012; OLIVEIRA; ARAÚJO; BORG, 2005).

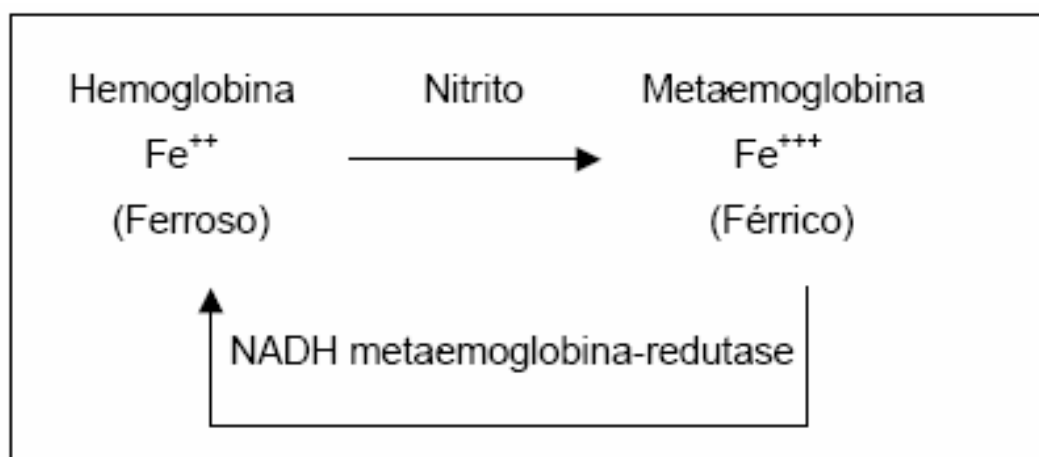
Sabe-se que o consumo de nitrito e nitrato acima dos valores recomendados traz malefícios a nossa saúde. Um dos prejuízos se deve a metemoglobinemia, sendo esta uma síndrome decorrente do aumento da concentração de meta-hemoglobina no sangue que pode ocorrer por alterações congênitas na síntese ou metabolismo da hemoglobina (DUARTE, 2010). Os nitritos, quando absorvidos pelo organismo, entram na corrente sanguínea e induzem a oxidação do ferro da hemoglobina a meta-hemoglobina, o qual é incapaz de transportar oxigênio (ARAÚJO; RODRIGUES, 2008).

Em recém-nascidos, uma ingestão elevada de nitrato tem sido associada com metemoglobinemia (“síndrome do bebê azul”). Adultos saudáveis são capazes de consumir quantidades maiores de nitrato, com menores efeitos. O nitrato parece ser um composto relativamente inofensivo, mas quando reduzido a nitrito, tem sido associada à metemoglobinemia em lactentes. Nitrito absorvido pela corrente sanguínea reage com oxihemoglobina para produzir meta-hemoglobina, que não pode transportar oxigênio. A

cianose (coloração azulada) começa a tornar-se evidente quando a concentração de meta-hemoglobina atinge cerca de 10 g/L (5-10% da hemoglobina total é a forma meta-hemoglobina). A morte ocorre por causa da oferta de oxigênio reduzida para os tecidos, assim, a variável importante é a quantidade de hemoglobina normal. Indivíduos anêmicos são severamente afetados em concentrações muito menores que meta-hemoglobina do que indivíduos não anêmicos (DUNCAN et al., 1997).

O nitrito interage com a hemoglobina, oxidando a meta-hemoglobina; nesta reação, o átomo de ferro do grupo heme é oxidado a ferro. Como a meta-hemoglobina não se liga de forma reversível ao oxigênio, ocorre redução no transporte de oxigênio dos alvéolos para os tecidos (MOREAU; SIQUEIRA, 2008). (FIGURA 3) Os altos níveis de meta-hemoglobina, em torno de 10% podem produzir cianose assintomática e, em níveis entre 20 e 30%, podem acarretar o aparecimento de cianose com sinais de hipóxia, astenia, dispneia, cefaleia, taquicardia e inconsciência. Concentrações em níveis superiores a 50% podem ser fatais (DUARTE, 2010). Os lactentes são mais suscetíveis a metemoglobinemia, uma vez que apresentam deficiência fisiológica transitória de meta-hemoglobina redutase ou de seu cofator Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NADH), além de possuir baixa acidez estomacal, tornando-as mais suscetíveis a ação das bactérias redutoras de nitrato (NASCIMENTO et al., 2008). Portanto, crianças com idade inferior a seis meses, com elevado consumo de nitritos e nitratos, podem desenvolver a síndrome de metemoglobinemia (HORD; TANG; BRYAN, 2009).

Figura 2 - Formação de metemoglobinemia pelo nitrito e sua conversão à hemoglobina



Fonte: Swann (1975).

A toxicidade do nitrato é menor que a do nitrito. Estudos mostram que uma dose de 0,15 mg/kg de peso de nitrato não altera a quantidade de meta-hemoglobina, porém se a dose ultrapassar de 15 g/kg pode ser fatal. Enquanto que para o nitrito basta a ingestão ser de 32 mg/kg para ser fatal (HARADA; SILVA, 2002).

Estudos analisados referem que, para os lactentes que consomem fórmulas lácteas preparadas com água do poço, pode haver um risco elevado de contaminação por nitratos (HORD; TANG; BRYAN, 2009; KNOBELOCH et al., 2000). Outro fator que pode ser relacionado com a alta incidência de metemoglobinemia é o uso de ureia herbicidas (WATT et al., 2005) na cultura de legumes, e estes serem usados na alimentação de crianças. Além deste risco, a preparação de alimentos em casa à base legumes com uso de beterraba, espinafre, feijão verde, abóbora e cenoura, também podem gerar intoxicação (HORD; TANG; BRYAN, 2009), e desta forma, devem ser evitados até os três meses de idade (HORD; TANG; BRYAN, 2009).

Martinez et al. (2013) em seu estudo de caso-controle com 78 lactentes, realizado na Espanha, observou maior prevalência de aleitamento materno nos casos com metemoglobinemia, em comparação aos controles, o que pode estar relacionado à presença de nitritos no leite materno, e este mecanismo pode resultar em um aumento da ingestão de nitratos-nitritos por crianças com metemoglobinemia. A conversão de nitrato em nitrito é reforçada pela menor acidez do estômago em crianças, o que promove o crescimento de microrganismos capaz de reduzir nitrato em nitrito, uma situação que pode ser influenciada pela amamentação (VITTOZZI, 1993). A relação provavelmente existe entre o hábito de preparar papas em casa e aleitamento, pois ambas as variáveis podem ser associadas com um estilo de vida mais natural (MARTINEZ et al., 2013). Outros autores, entretanto, relataram que a amamentação protege contra metemoglobinemia em crianças menores de 6 meses (ZEMAN; KROSS; VLAD, 2002).

Outra grande preocupação com a saúde da população com relação à dieta com alta ingestão de nitrato é a potencial formação de N-nitrosaminas carcinogênicas, a partir de nitritos e aminas secundárias, formadas no estômago (DUNCAN et al., 1997). A alta incidência de casos de câncer tem grande relação com os fatores ambientais, dentre eles a alimentação. A doença é caracterizada por um grande problema de saúde pública por envolver vários gastos com o diagnóstico, tratamento, campanhas e programas, sistemas de gerenciamento e, até mesmo, incentivos para a formação de profissionais especializados. O

risco do desenvolvimento de cânceres de intestino, estômago e pâncreas está associado com o consumo de embutidos. O câncer colorretal está entre os três principais tipos de câncer diagnosticados, e tem sido associado com o consumo de carne vermelha, principalmente, carnes tratadas com nitrito como um aditivo alimentar (MILKOWSKI et al., 2010; MILLER et al., 2013; ZHU et al., 2014).

É razoável concluir que todos os alimentos fontes de nitrato e nitrito são diferentes em relação ao potencial de benefícios ou riscos à saúde. O consumo de nitrito e cânceres gastrointestinais foi associado ao fato de que os nitritos ingeridos podem reagir com aminas secundárias ou N-alquilamidas e gerar compostos cancerígenos N-nitrosos. As N-nitrosamidas demonstraram-se mutagênicos diretos, enquanto que N-nitrosaminas não agem como agentes mutagênicos diretos, mas geralmente requerem ativação por enzimas microsossomais no interior do organismo (NORMAN; YAOPING; NATHAN, 2009). O estudo de Loh et al. (2011) demonstrou que os compostos N-nitrosos (NOC) e N-dimetilamina estão associados com a incidência de câncer gastrointestinal e que a vitamina C poderia ser um fator que modifica esta relação entre a exposição e o risco de câncer.

Outro estudo verificou a relação entre a ingestão de alimentos com nitritos e N-nitrosaminas e o aparecimento de câncer gástrico e esofágico, assim como uma associação positiva com a ingestão de carne, para ambos os cânceres (JAKSZYN; GONZALEZ, 2006). Da mesma forma que outros estudos também mostram associação entre a incidência de câncer e a ingestão de carne processada (HERRMANN et al., 2015; BASTIDE et al., 2015).

Aschebrook-Kilfoy (2012) em seu estudo demonstrou que mulheres com maiores níveis de consumo de nitrato, em comparação com as de menor consumo apresentaram um risco mais elevado de câncer de ovário. Também foi observada uma associação positiva entre nitrito de origem animal e risco de câncer epitelial de ovário. Assim como em outro estudo, que investigou a relação do consumo de nitrito e nitrato com o câncer renal, constatou que os indivíduos que consomem maior quantidade de nitrito são aqueles que ingerem maior quantidade de carne processada. E os participantes com maior consumo de nitrato e nitrito, oriundas de carne processada, demonstraram ter um aumento do risco de câncer renal (DELLAVALLE et al., 2013).

No estudo de Kilfoy et al. (2011) foi observada uma interação significativa entre a ingestão de nitrato na dieta e o risco de câncer de tireoide por gênero. As análises do risco

relativo, com intervalo de confiança de 95% para câncer de tireoide em homens e mulheres, demonstrou um risco crescente com o aumento da ingestão nitrato entre os homens e uma ligeira diminuição no risco entre as mulheres. O que não foi observado em relação ao aumento da ingestão nitrito.

Quantidades de nitrito e nitrato também são encontradas em vegetais. A decomposição de produtos orgânicos e o uso de fertilizantes geram certas quantidades de nitrito e nitrato que ficam disponíveis no solo em que estes alimentos são cultivados. Estudiosos indicam que o modo de cultivo orgânico, que visa produzir produtos sem a adição de fertilizantes ou agrotóxicos, possui menores quantidades de nitrito e nitrato, sendo este o motivo pelo qual os produtos convencionais apresentem maior quantidade destes sais (HORD; TANG; BRYAN, 2009; KREUTZ et al., 2012).

2.4 Contaminação microbiológica, atividade de água e pH de queijos e linguiças

A capacidade dos microrganismos se desenvolverem em um alimento está relacionada a múltiplos fatores que proporcionam condições favoráveis para que ocorra a multiplicação, sendo divididos em fatores intrínsecos, os quais estão relacionados às características próprias do alimento, como umidade, potencial de óxido-redução e tensão de O_2 , pH, composição do alimento, concentração salina, estrutura biológica do alimento, substâncias inibidoras como por exemplo: lacteína (leite fresco), lisozima (clara do ovo), ácido benzoico (vegetais), eugenol (cravo), canela, penicilina, clavicina, ácido propiônico e antagonismo bacteriano e fatores extrínsecos, relacionados ao ambiente em que o alimento está presente, como, temperatura, umidade relativa do ambiente, presença de gases no ambiente (CO_2 e O_3), substâncias adicionadas para inibir ou retardar a multiplicação microbiana (ácido ascórbico, dióxido de enxofre, ácido benzoico, nitrato, nitrito, antibióticos e irradiação (SILVA JR., 2014).

O pH é um parâmetro físico utilizado para medir a acidez e basicidade de um produto, dentre eles os cárneos e derivados do leite. Nos alimentos com baixa acidez o pH deve ser maior que 4,5 e nos alimentos com alta acidez o pH pode ser menor ou igual a 4,5 (BRASIL, 2001). Nos derivados de leite, como queijo, este parâmetro pode estar entre 4,9 e 5,9 estabelecidos pela (BRASIL, 1996). A maioria dos microorganismos cresce melhor com valores de pH em torno de 7,0 (6,6 - 7,5), as bactérias patogênicas tendem a ser mais

exigentes que as bactérias não-patogênicas, mofo e leveduras. O pH do meio se torna mais ácido à medida que a temperatura aumenta. A baixa atividade de água faz com que cesse a produção de enterotoxina B por *Staphylococcus aureus* (JAY; TONDO, 2005).

A atividade de água é utilizada na caracterização de produção e análise de alimentos, pois determina o quão favorável é a proliferação de microorganismos naquele insumo bem como seu desenvolvimento. Seu limite é 1, então quando determinada por equipamento específico ela pode alcançar até este valor. A legislação preconiza que em queijos a atividade de água fique entre 0,93 - 0,97 (GOMES; SILVA; MEDEIROS, 2013). Normalmente, bactérias Gram negativas necessitam valores maiores de atividade de água do que as Gram positivas, enquanto os bolores podem crescer em ambientes com atividade de água ainda menor (FRANCO; LANDGRAF, 1999). A atividade de água está intimamente associada a outros fatores ambientais como pH, temperatura e disponibilidade de oxigênio e de nutriente. Assim, se a temperatura for ótima, a capacidade de multiplicação do microrganismo ocorre em uma faixa maior de valor de atividade de água; a mesma interdependência é observada quanto à disponibilidade de nutrientes ou disponibilidade de oxigênio (FRANCO; LANDGRAF, 1999).

Os alimentos de origem animal não são totalmente isentos de riscos à saúde, pois sua riqueza em proteínas e água facilita a rápida deterioração do produto, bem como a sobrevivência e multiplicação de microorganismos patogênicos, que, usualmente, utilizam vias de transmissão como resultado de contaminação acidental, por secreções ou excreções de indivíduos portadores, como os coliformes fecais e o *Staphylococcus aureus*. As bactérias do gênero *Salmonella*, provocam infecções intestinais e são consideradas como a causa mais importante de doença transmitida por alimentos, chamadas de salmonelose (GERMANO; GERMANO, 2013). É comum encontrar a produção desses alimentos em propriedades rurais ou em pequenas indústrias, que muitas vezes não conhecem ou não adotam as boas práticas de fabricação, não apresentando segurança microbiológica e padronização de qualidade (CATÃO; CEBALLOS, 2001).

A *Salmonella* é um gênero da família *Enterobacteriaceae*, bactérias Gram-negativas, anaeróbicas facultativas, que possuem formato de bastonetes curtos e não formam esporos. Seu principal reservatório é o trato gastrointestinal do homem e de animais, principalmente aves e suínos, e sua contaminação ocorre por via oral-fecal através da ingestão de alimentos contaminados (GERMANO; GERMANO, 2013). Normalmente é encontrada no trato

intestinal de animais de sangue quente, especialmente as aves e tem como principal veículo de disseminação os alimentos e a água (CATÃO; CEBALLOS, 2001; CORREIA; RONCADA, 1997). Os alimentos frequentemente associados com a *Salmonella* são a carne bovina crua, aves domésticas, ovos, leite e derivados, peixe, camarão, perna de rã, fermentos, cocos, molhos e temperos para salada, misturas para bolos, sobremesas recheadas e coberturas com cremes, gelatina desidratada, manteiga de amendoim, cacau e chocolates. A contaminação do alimento ocorre devido ao controle inadequado da temperatura, de práticas de manipulação ou por contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos processados. Assim, havendo condições favoráveis no alimento, as bactérias se multiplicam e atingem a dose infectante que pode ser de até 10^6 células. Contudo, a dose infecciosa pode variar de acordo com o estado de saúde e idade do indivíduo, tipo de alimento e linhagem da *Salmonella* (FORSYTHE, 2013). Os sintomas podem ser diarreia, náuseas, vômitos, dor abdominal, febre moderada e calafrios, vômitos, dor de cabeça, fraqueza, fadiga muscular, nervosismo e sonolência e podem persistir por 2 a 3 dias, e surgem em torno de 12 a 14 horas após a ingestão do alimento, embora períodos mais curtos e mais longos já foram relatados (JAY; TONDO, 2005). O período de incubação da doença é de 16 a 72 horas e o número de casos de salmonelose, costuma ser maior no verão. A temperatura ideal de crescimento da *Salmonella* é de aproximadamente 38°C e a temperatura mínima para o crescimento é de cerca de 5°C. Como não formam esporos podem ser destruídas a 60°C, por 5 a 20 minutos (FORSYTHE, 2013).

Para controlar e evitar a multiplicação e contaminação de *Salmonella spp.* em alimentos são necessárias práticas de tratamento de efluentes e de dejetos de origem animal, práticas de higiene durante o abate e também durante o processamento e manipulação do alimento, bem como cuidados no processo de cocção e armazenamento do produto, que precisam estar em temperaturas adequadas (CDC, 2009; FDA, 2012; GERMANO; GERMANO, 2013). Dados provenientes do Sistema de Informação de Agravos de Notificação, o SINAN, mostraram que *Salmonella spp.* apresentou forte associação com surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, nos anos de 2000 a 2014, sendo um dos agentes etiológicos conhecidos, mais frequente (BRASIL, 2014).

Entre as espécies coagulase positiva, *Staphylococcus aureus* é um dos agentes patogênicos mais envolvidos em surtos e casos esporádicos de intoxicação estafilocócica (CÂMARA, 2001). O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica (coco) gram-positiva, anaeróbia facultativa, a qual ocorre em pares, em pequenas cadeias ou em cachos. Ela existe

no ar, na poeira, no esgoto, na água, no leite e nos alimentos ou equipamentos de processamento de alimentos, nas superfícies expostas aos ambientes, nos seres humanos e animais. Os humanos e animais são os principais reservatórios. O *Staphylococcus aureus* está presente nas vias nasais, garganta, cabelo e pele, de 50% dos indivíduos saudáveis. As intoxicações humanas são causadas pela ingestão de enterotoxinas produzidas nos alimentos por alguma linhagem do *Staphylococcus aureus*, porque o alimento não é mantido quente (60°C ou mais) ou frio (7,2°C ou menos). As enterotoxinas são produzidas entre 10°C e 46°C, com faixa ótima entre 40°C e 50°C. Em condições consideradas ideais, torna-se evidente a síntese de enterotoxina no período de quatro a seis horas. A incubação de um surto é de trinta minutos a oito horas sendo a média de duas a quatro horas após a ingestão do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 1999). Os alimentos normalmente relacionados às intoxicações causadas por *Staphylococcus aureus* são carnes e produtos de carne, frangos e produtos de ovos, saladas como atum, galinha, batata, macarrão, produtos de panificação como creme, tortas e bombas de chocolate, sanduiches e leites, ou produtos lácteos. Os sintomas da intoxicação causam náuseas, vômitos e dores abdominais e seu início é rápido, ocorrendo dentro de horas após a ingestão, podendo durar por 2 a 3 dias (FORSYTHE, 2013).

Outro agravante são os coliformes termotolerantes que indicam que houve contaminação de origem fecal recente do produto sendo que a detecção de elevado número destas bactérias em um alimento, inclusive em processados, é interpretada como possível presença de patógenos intestinais (HOFFMANN et al., 1996). Os coliformes são bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, Gram-negativos, não esporulados, do tipo bastonetes, que fermentam a lactose para formas gás a 38°C (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Os coliformes são representados por quatro gêneros da família Enterobacteriaceae: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* e já foram descritos crescendo em temperaturas de -2°C e 50°C e em pH entre 4,4 e 9. Também são capazes de crescer na presença de sais biliares, os quais inibem as bactérias Gram-positivas (JAY; TONDO, 2005). Como alguns coliformes não são unicamente bactérias entéricas, mas são mais comumente encontrados em plantas e amostras de solos, muitos padrões para alimentos e água especificam a identificação de coliformes termotolerantes. O coliforme termotolerante, predominante é a *Escherichia coli*, que constitui uma grande proporção da população bacteriana intestinal humana (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). O habitat primário da *Escherichia coli* é o trato intestinal de animais de sangue quente (JAY; TONDO, 2005), portanto podem ser ingeridas por meio da contaminação por fezes do homem e animais de sangue quente, água de rios, lagos, nascente e

poços. A contaminação se dá de forma cruzada entre os alimentos, crus e cozidos, utensílios não desinfetados, mãos não higienizadas e manipulação de alimentos depois de utilizar o sanitário. Os alimentos que mais causam contaminação por *Escherichia coli* é a água, hortaliças regadas com água contaminada, carnes, pescados, verduras e legumes crus ou mal cozidos, saladas, maionese, maionese de legumes, purê de batata, massas frescas, lasanhas e sobremesas, leites e queijos. O período de incubação é de 8 a 72 horas e causa diarreia, vômito, cólica e náuseas (SILVA JR., 2014). A contaminação microbiana desses produtos assumem destacada relevância para a saúde pública, pelo potencial risco de causar doenças transmitidas pelo alimento (CATÃO; CEBALLOS, 2001).

2.5 Benefícios cardioprotetores do consumo de nitrito e nitrato na saúde humana

O consumo de nitrito e nitrato através de alimentos vegetais não são causadores de câncer, ao contrário, possuem características protetoras, vitaminas e minerais antioxidantes, bem como as fibras e o ácido ascórbico que inibem a formação de N-nitrosaminas. As quantidades diárias recomendadas pela dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) é um consumo de 8 a 10 porções de vegetais ao dia (APPEL et al., 1997).

O nitrito e nitrato de vegetais também estão associados aos níveis de pressão arterial normal, à vasodilatação das artérias e ao processo imunológico. Esta reação acontece no momento em que os nitrito e nitrato são convertidos em óxido nítrico e que age no endotélio vascular, sendo benéfico para prevenir doenças cardiovasculares. Além disso, há associação com processos anti-inflamatórios e no melhor rendimento durante o exercício (BRYAN et al., 2008; HORD; TANG; BRYAN, 2009; KATAN, 2009; LARSEN et al., 2007; WEBB et al., 2008).

Esse fator de proteção se torna importante na medida em que as doenças cardiovasculares (DCV) são a maior causa de morte no mundo (WHOa, 2014). Em 2012 estima-se que 17,5 milhões de pessoas morreram de DCV, o que corresponde a 31% de todas as mortes globais, 7,4 milhões foram devido a doença cardíaca coronária e 6,7 milhões foram devido a acidente vascular cerebral. A maioria das DCV podem ser prevenidas, estimulando mudanças comportamentais, como evitando o tabagismo, dieta mais saudável e manter o peso normal, praticando atividade física regularmente e a moderação no uso do álcool (WHO, 2015). A redução do risco cardiovascular resulta na prevenção de ataques cardíacos e

acidentes vasculares cerebrais (MENDIS; PUSKA; NORRVING, 2011). A grande maioria dos nitratos provenientes da dieta são derivados de frutas e vegetais que, por sua vez contribuem para o efeito da diminuição da pressão sanguínea (CORREIA et al., 2010). O consumo tanto de vegetais quanto de embutidos, podem fornecer óxido nítrico, depois da conversão de nitrito e nitrato no organismo, e concomitante ao consumo de antioxidantes preveniriam DCV (HORD; TANG; BRYAN, 2009; MILKOWSKI et al., 2010).

Keen et al. (2014), em seu estudo com mulheres utilizando a suplementação de suco de beterraba mostrou que este, teve impacto na redução da PAD, na pressão arterial média e na promoção da vasodilatação mas, não observou efeito na PAS. George et al. (2013) e Gilchrist et al. (2013) mostraram uma tendência na redução da PAD e um aumento da vasodilatação do endotélio, sem diferença significativa. Dois estudos mostraram por meio da suplementação de altas concentrações de nitrato com suco de beterraba, diferenças nas concentrações plasmáticas de nitrito e nitrato, alterando por sua vez a pressão arterial e melhorando a resposta ao exercício físico em indivíduos com idade mais avançada (KELLY et al., 2013; OMAR; ARTIME; WEBB, 2012).

Foi realizado um estudo sobre o efeito agudo de uma dieta rica em nitrato na perfusão cerebral em indivíduos mais velhos, na qual foi constatado que a suplementação de nitrato ao café da manhã não alterou a perfusão cerebral global, mas levou ao aumento da perfusão cerebral regional em matéria branca do lobo frontal, especialmente entre o córtex pré-frontal dorsolateral e córtex cingulado anterior (PRESLEY et al., 2011).

A investigação biomédica tem demonstrado recentemente que o óxido nítrico pode ser modulado pela dieta, independentemente da sua síntese enzimática, a partir da L-arginina, como por exemplo, por meio do consumo de alimentos ricos em nitritos e nitratos como frutas, legumes e carne curadas juntamente com antioxidantes. Esta ingestão assegura que os níveis sanguíneos e teciduais de óxido nítrico são mantidos a um nível suficiente para compensar eventuais distúrbios na homeostase (MILKOWSKI et al., 2010). Levando em conta a forte evidência existente entre o consumo de nitritos e nitratos provenientes de vegetais e os efeitos benéficos para a saúde, estudos referem que deveria haver uma consideração destes compostos enquanto nutrientes (HORD; TANG; BRYAN, 2009; LUNDBERG et al., 2011).

Desta forma, a suplementação dietética de nitrito e nitrato parece ter efeitos benéficos para a saúde humana, mas os efeitos sobre a função vascular e desfechos cardiovasculares, em longo prazo, são desconhecidos. Gilchrist et al. (2013), consideram que as evidências epidemiológicas que associam o consumo de vegetais verdes à redução do risco cardiovascular e as fontes de nitrito e nitrato na alimentação precisam ser consideradas.

O uso destes compostos é amplamente discutido, sendo que, de um lado, em quantidades elevadas, pode ser considerado tóxico e cancerígeno, ao mesmo tempo em que possui características antioxidantes e atuam como protetor cardiovascular. E tanto o câncer como as doenças cardiovasculares se agregam ao elevado grupo de mortes e gastos do setor público brasileiro (GAZIANO; GALEA; REDDY, 2007).

Estudiosos sugerem a importância de pesquisas que consigam repassar uma informação mais precisa e correta da adição destes sais aos produtores, de forma que não prejudiquem a saúde do consumidor ao ingerir alimentos que excedam a quantidade recomendada (DUTRA; RATH; REYES, 2007; GUERREIRO; SÁ; RODRIGUES, 2012; KREUTZ et al., 2012; MELO FILHO; BISCONTINI; ANDRADE, 2004). Demais estudiosos ainda estabelecem um controle de consumo para as faixas mais suscetíveis, como crianças, gestantes, lactentes, idosos e enfermos com imunidade baixa (HORD; TANG; BRYAN, 2009; OLIVEIRA; ARAÚJO; BORGO, 2005). Percebe-se então, a importância de controlar e descrever as quantidades destes sais nos produtos que são abertamente comercializados. A Segurança Alimentar e Nutricional é um direito de todos os indivíduos e nela se engloba o direito ao acesso por alimentos de qualidade e garantia de segurança do alimento consumido (TADDEI et al., 2011).

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo

Este trabalho, no que se refere ao método, é experimental e analítico, segundo Gil (2008), ao se determinar um objeto de estudo, neste caso, amostras de alimentos, são escolhidas variáveis que são capazes de influenciá-lo. A partir daí se estabelece condições de controle de maneira a observar os resultados dos efeitos das variáveis produzidas no objeto.

3.2 Procedimentos

As amostras foram coletadas nos primeiros 5 dias após a produção das linguiças e queijos, para que a primeira análise fosse realizada no período de até 07 dias após a produção. As empresas primeiramente foram contatadas por telefone para realizar a marcação da busca do produto pelo pesquisador para levar as amostras aos respectivos laboratórios.

3.2.1 Amostras de queijos e linguiças

As amostras de queijos Prato (n=14) e Colonial (n=10) foram adquiridas diretamente nas indústrias com Inspeção Sanitária Municipal (n=11) e Estadual (n=13), produzidas em municípios do Vale Taquari durante os meses de abril, maio e junho de 2013. Para a coleta

das amostras houve o cuidado de mantê-las íntegras, com o mínimo de contato ou manipulação.

Para o desenvolvimento das análises (físico-químicas, microbiológicas e de concentração de nitrito e nitrato) nos queijos foram coletadas no mínimo duas e no máximo quatro amostras de cada marca, sendo que cada amostra correspondia a um lote diferente, totalizando 24 amostras. A determinação quantitativa dos teores de nitrato e nitrito foi realizada em todas as amostras, conforme classificação do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ's) específico para cada tipo de queijo (BRASIL, 1996). A totalidade dos queijos coletados foi de baixa umidade.

As amostras de queijos foram adquiridas em peças inteiras diretamente nos estabelecimentos produtores e transportadas até o laboratório de análise em caixas refrigeradas a 4°C para evitar contaminação microbiológica. Ao chegar ao laboratório, cada peça inteira foi fracionada em 4 amostras de 30g, sendo cada uma destas embalada, identificada por estabelecimento, lote e data da coleta e acondicionada em refrigerador a 4°C. Destas, uma das amostras foi utilizada para realização da análise de nitrito e nitrato e outra para análise microbiológica. E duas foram para análise de pH e atividade de água. A análise microbiológica dos queijos foi realizada uma vez em cada lote.

As amostras de linguças foram coletadas em 11 estabelecimentos fiscalizados pelo Sistema de Inspeção Municipal (SIM), em municípios localizados no Vale do Taquari, durante os meses de abril, maio e junho de 2013. Em cada um dos 11 estabelecimentos, foram coletadas 3 amostras do mesmo produto, sendo cada uma delas de um lote distinto, totalizando 33 amostras de linguça (n=33).

As amostras de linguças foram adquiridas em peças inteiras diretamente nos estabelecimentos produtores e transportadas até o laboratório de análise em caixas refrigeradas a 4°C para evitar contaminação microbiológica. Ao chegar ao laboratório, cada peça inteira foi fracionada em 6 amostras de 30 g, as quais foram embaladas, identificadas por estabelecimento, lote e data da coleta e acondicionadas em refrigerador a 4°C. Destas, uma das amostras foi utilizada para realização da análise inicial de nitrito e nitrato, três das amostras permaneceram acondicionadas em refrigerador a 4°C por 7, 14 e 30 dias, quando foi realizada uma nova análise da concentração de nitrito e nitrato em cada uma das amostras, para verificar a evolução na concentração ao longo do tempo. E duas foram para análise de

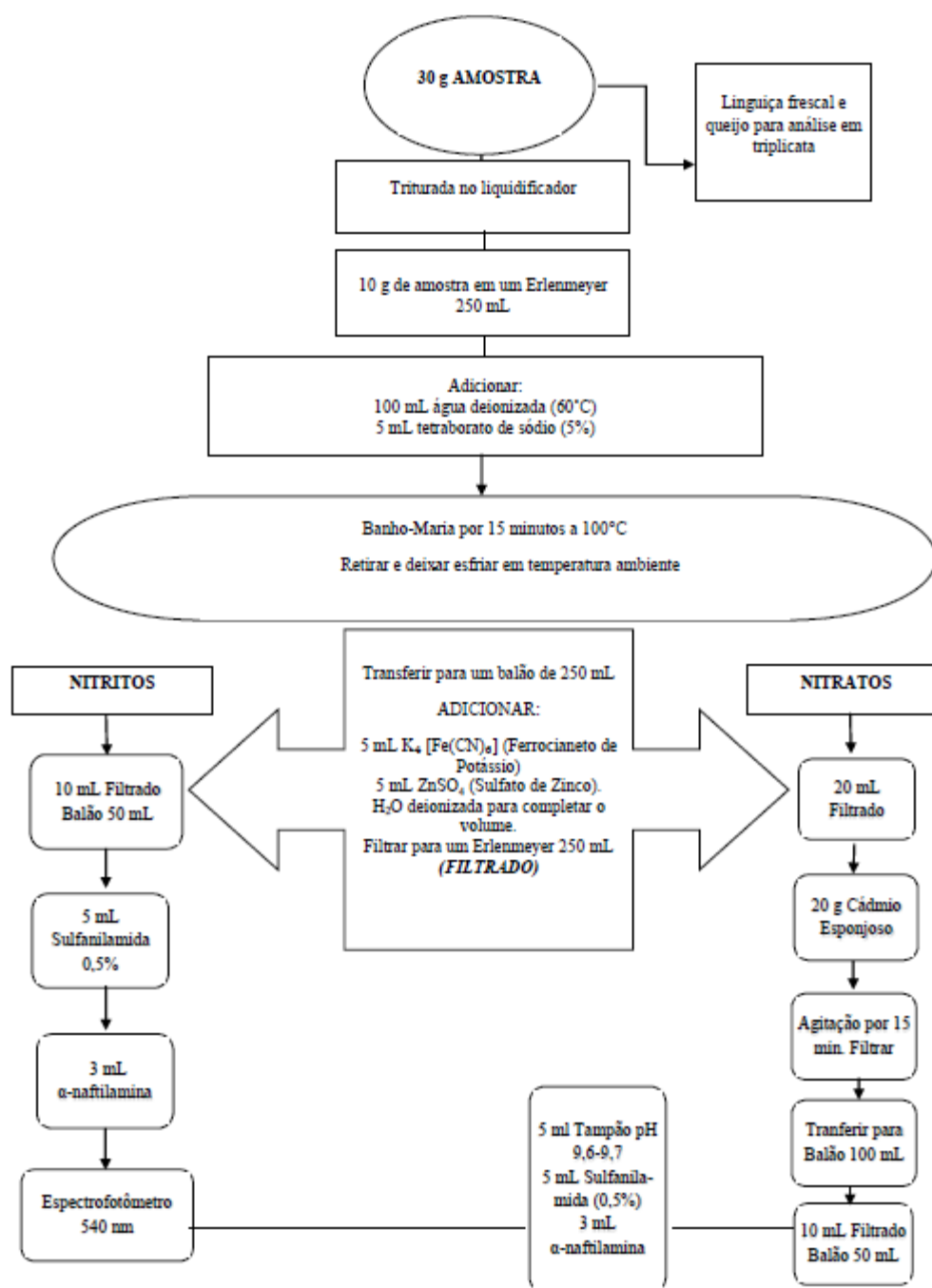
pH e atividade de água. Para análise microbiológica foram coletadas 30 gramas de um dos lotes, aleatoriamente, de cada marca, totalizando 11 amostras.

3.2.2 Análises físico-químicas dos queijos e das linguiças

Os teores residuais de nitratos e nitritos, pH e atividade de água das amostras foram realizados segundo as metodologias analíticas oficiais previstas na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000).

A determinação quantitativa de nitrito consiste na reação de diazotização do íon nitrito com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando o ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea. O produto resultante é determinado espectrofotometricamente a 540 nm (LARA; TAKAHASHI; SILVEIRA, 1978). O nitrato é reduzido a nitrito por ação do cádmio esponjoso em meio alcalino e determinado como citado anteriormente. As análises de nitrito e nitrato foram realizadas em todas as amostras em triplicata. A Figura 3 apresenta o fluxograma do procedimento experimental para a determinação de nitratos e nitritos nas amostras de queijos e linguiças.

Figura 3 - Fluxograma do procedimento experimental para a determinação de nitratos e nitritos



Fonte: Da autora (2015).

Para a determinação do pH nas amostras utilizou-se um pHmetro marca Digimed® e para medir a atividade de água foi usado um medidor Aqualab®, modelo CX-2, sendo determinada uma vez em cada amostra.

3.2.3 Análise microbiológica dos queijos e das linguças

Para as análises de coliformes termotolerantes foi utilizada a metodologia de AFNOR - Certificate Number 3M 01/2-09/89, para as análises de *Staphylococcus coagulase positiva* foi utilizada a metodologia de AFNOR - Certificate Number 3M 01/19 04/03 e para as análises de *Salmonella spp.* foi utilizada AFAQ AFNOR CERTIFICATION e ISO 6785:2001 (BRASIL, 2003). Para comparação foi utilizado como parâmetro de referência a Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001). As análises microbiológicas foram realizadas em laboratório certificado no MAPA, na Rede Metrológica do Rio Grande do Sul, cadastrado na Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM), com ISO 17025.

3.3 Análise estatística

A comparação dos teores de nitrato, nitrito, pH, atividade de água e presença de microrganismos nas amostras de queijo e linguça analisados com os respectivos valores de referência foi realizada através dos testes de *Wilcoxon*, *t-student* para uma amostra ou Exato de Fischer, respeitando-se as particularidades das variáveis (qualitativa ou quantitativa e sua normalidade). A comparação das variáveis quantitativas entre os produtos com inspeção estadual e municipal foi feita através do teste de Mann-whitney para variáveis não paramétricas. Os resultados estão apresentados por meio das estatísticas descritivas, média e desvio padrão ou mediana e de frequência absoluta e relativa (variáveis qualitativas). Os testes estatísticos foram realizados no *Software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 13.0, sendo considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

3.4 Critérios éticos

O presente estudo não foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVATES, pois não teve envolvimento com seres humanos e serviu para uso científico sem exposição do nome das empresas participantes. As empresas produtoras das linguças e queijos analisados não foram identificadas em nenhum momento da pesquisa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análises de amostras de queijos produzidos no Vale Taquari

A partir dos resultados das amostras de queijos coletados no Vale do Taquari - RS, a média de atividade da água nas amostras foi de $0,94 \pm 0,004$, do pH de $5,62 \pm 0,33$, de nitrato $83,35 \pm 216,45$ mg/kg e de nitrito $3,47 \pm 3,46$ mg/kg.

Os teores de nitrato e nitrito encontrados nos queijos quando comparados com as quantidades máximas de adição permitidas pela legislação foram significativamente superiores. As concentrações de nitrato e nitrito acima do recomendado pela legislação foram encontradas em 33,3% e 100% das amostras de queijos, respectivamente. Ao determinar quantitativamente os teores de nitratos nas amostras por tipo de queijo, observou-se que 42,9% dos queijos tipo Prato e 20% das amostras de queijo tipo Colonial apresentaram-se não conforme ao preconizado pela legislação (50 mg/kg do produto).

Em 41,7% (n=10) e 25% (n=6) do total das amostras de queijos, foram encontrados índices de contaminação por coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva* acima do preconizado pela legislação, respectivamente, contudo não foi verificada diferença significativa para os valores encontrados em relação ao valor de referência, e 100% das amostras de queijos estavam isentas de *Salmonella spp.* (TABELA 1).

Tabela 1 - Comparação dos níveis de nitrato, nitrito, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase positiva* de queijos produzidos no Vale Taquari (RS) com as quantidades máximas preconizadas pela legislação (n=24)

Variável	Comparação com Referência	N	%	p*
Nitrato	Superior	8	33,3	0,030
	Inferior	16	66,7	
Nitrito	Superiores	24	100	NSA
	Inferiores	-	-	
Coliformes termotolerantes	Superiores	10	41,7	0,330
	Inferiores	14	58,3	
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Superiores	6	25,00	0,296
	Inferiores	18	75,00	
<i>Salmonella spp.</i>	Ausência	24	100	NSA
	Presença	-	-	
pH	Acima da referência	4	16,7	> 0,05
	Conforme a referência	20	83,3	
Atividade de Água	Acima da referência	-	-	NSA
	Conforme a referência	24	100	

* Teste não-paramétrico de Wilcoxon. NSA – não se aplica. Referência: RDC nº 12 (BRASIL, 2001); n = número de casos em número absoluto; % = percentual.

Fonte: Da autora (2015).

A comparação das médias de *Staphylococcus coagulase positiva* encontrados nos queijos foi significativamente superior nas amostras fiscalizadas pela Inspeção Estadual quando comparados a Inspeção Municipal (p=0,047). Já na comparação das médias de nitrato, nitrito, atividade de água e pH não foi verificado diferença significativa em relação ao tipo de Inspeção (TABELA 2).

A Tabela 3 apresenta os resultados da comparação do tipo de inspeção com coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva*, demonstrando-se diferença significativa quando comparados os resultados de coliformes termotolerantes (p=0,047) e *Staphylococcus coagulase positiva* (p=0,013) entre os queijos fiscalizados pelo SIM e CISPOA, sendo a presença de *Staphylococcus* e de Coliformes termotolerantes acima da legislação associados à Inspeção Estadual.

Tabela 2 - Quantificação de nitrato, nitrito, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase positiva*, pH e atividade de água de queijos produzidos no Vale do Taquari (RS) de acordo com o tipo de inspeção (n=24)

Variável	Inspeção	N	Média	DP	Valor de referência	P*
Nitrato (mg/kg)	Inspeção Municipal	11	133,69	319,77	≤ 50	0,776
	Inspeção Estadual	13	40,75	17,08		
Nitrito (mg/kg)	Inspeção Municipal	11	3,36	3,93	Ausência	0,910
	Inspeção Estadual	13	3,56	3,18		
Coliformes termotolerantes	Inspeção Municipal	11	978,18	1995,11	≤ 1.000 UFC/g	0,106
	Inspeção Estadual	13	24173,54	49435,13		
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Inspeção Municipal	11	13,64	12,06	≤ 1.000 UFC/g	0,047
	Inspeção Estadual	13	43523,08	132614,17		
Atividade de Água	Inspeção Municipal	11	0,940	0,004	0,93 -0,97	0,820
	Inspeção Estadual	13	0,940	0,005		
pH	Inspeção Municipal	11	5,65	0,46	4,9 - 5,9	0,776
	Inspeção Estadual	13	5,59	0,18		

* Teste não-paramétrico Mann-Whitney. significativo $p \leq 0,05$. n = número de casos em número absoluto; % = percentual. DP: Desvio Padrão.

Fonte: Da autora (2015).

Tabela 3 - Coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva* em queijos produzidos no Vale do Taquari (RS) de acordo com o tipo de Inspeção (n=24)

Variável	Categoria	Inspeção				p*
		Municipal		Estadual		
		n	%	n	%	
Coliformes termotolerantes	Acima da Legislação	2	18,2	8	61,5	0,047
	De acordo c/ Legislação	9	81,8	5	38,5	
Resultado <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Presença	-	-	6	46,2	0,013
	Ausência	11	100,0	7	53,8	

* Teste Exato de Fisher. * significativo $p \leq 0,05$. n = número de casos em número absoluto; % = percentual.

Fonte: Da autora (2015).

A Tabela 4 apresenta os resultados da comparação do tipo de queijo com coliformes termotolerantes, e *Staphylococcus coagulase positiva* e pH. Foram comparadas as amostras dos queijos tipo prato com colonial, onde não se observou diferença significativa quando comparados os resultados do pH e das análises microbiológicas de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva*.

Tabela 4 - Coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase positiva*, pH de acordo com o tipo de queijo produzido no Vale do Taquari (RS) (n=24)

Variável	Categoria	Tipo de Queijo				p*
		Prato		Colonial		
		n	%	n	%	
Coliformes termotolerantes	Acima da legislação	5	35,7	5	50,0	0,678
	Acordo com legislação	9	64,3	5	50,0	
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Presente	2	14,3	4	40	0,192
	Ausente	12	85,7	6	60	
pH	Adequado	13	92,9	7	70,0	0,272
	Inadequado	1	7,1	3	30,0	

* Teste Exato de Fisher. n = número de casos em número absoluto; % = percentual.

Fonte: Da autora (2015).

A média de nitrato e nitrito encontrada no total das amostras de queijos, assim como das amostras de ambos os tipos de Inspeções do presente estudo, apresentaram-se em desacordo com o que está descrito na Portaria nº 146, de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (DUARTE, 2010), que permite o limite máximo de 50 mg/kg (ppm) de nitrato de sódio ou potássio, isolados ou combinados e determina a ausência de nitritos.

Seraphim e Siqueira (2000), em seu estudo realizado em Minas Gerais verificaram que das 43 amostras analisadas, 38 (88,37%) não apresentaram nitrato e nitrito em níveis detectáveis, em 5 (11,63%) foi encontrado nitrato, sendo que em 4 (18,6%), acima do limite máximo permitido, somente uma (2,33%) apresentou nitrito abaixo do limite máximo permitido, resultados inferiores aos encontrados pelo atual estudo, onde 33,3% e 100%, das amostras apresentaram concentrações de nitrato e nitrito, respectivamente, acima do recomendado pela legislação.

No estudo de Gonçalves et al. (2011) foram encontrados 18% das amostras de queijos tipo parmesão e 10% do queijos tipo prato em desacordo com o preconizado pela legislação em relação a adição de nitrato, resultado inferiores aos do atual estudo, que demonstrou 20% das amostras de queijos tipo colonial e 42,9% das amostras de queijos tipo prato em desacordo com a legislação. Em relação à presença de nitrito nos queijos analisados pelo mesmo estudo não foi encontrada a presença desta substância nas amostras.

O estudo mostrou que 41,7% as amostras de queijos apresentaram resultados de coliformes termotolerantes acima do preconizado pela legislação, resultado superior ao verificado por Feitosa et al. (2003), realizado com queijo tipo coalho, onde 36,4% das amostras apresentavam contagens de coliformes termotolerantes acima do recomendado e inferior à Oliveira, Bravo e Tonial (2012), que observaram 50% dos queijos tipo colonial impróprios para o consumo humano em relação à análise de coliformes. Castro et al. (2012) analisaram amostras de queijos tipo mussarela e observaram que 100% das amostras apresentaram resultados de coliformes termotolerantes abaixo do nível de referência. A higienização precária no momento da ordenha, o armazenamento inadequado do leite e a intensa manipulação são as principais causas de contaminação do leite (BASTOS et al., 2001).

Rahimi (2013), estudando a enterotoxigenidade de *Staphylococcus aureus* em produtos lácteos comerciais, encontrou 11,1% das amostras de queijos positivas para esse patógeno, possivelmente pelo uso de leite não pasteurizado, além da produção de alimentos em locais insalubres sem cuidados de manipulação e armazenamento (ZOCHE; SILVA, 2012). Em relação ao *Staphylococcus coagulase positiva*, encontrou-se 25% dos queijos analisados em desacordo com a legislação, corroborando com o estudo de Pinto et al. (2011), no município de Santa Helena, no Paraná, com amostras de queijos tipo minas frescal inspecionadas pelo serviço Estadual e Federal. Por outro lado, o estudo de Komatsu et al. (2010), realizado em Uberlândia, Minas Gerais, demonstrou a ocorrência de *Staphylococcus coagulase positiva* em níveis inaceitáveis em 88% das amostras de queijos minas frescal e Oliveira, Bravo e Tonial (2012), demonstraram que a totalidade das amostras de queijos tipo colonial estava contaminada. Galinari et al. (2014) analisaram microrganismos presentes em queijos artesanais de duas regiões de Minas Gerais e verificaram que todas as amostras da região da Canastra para *Staphylococcus aureus* e duas do Serro estavam abaixo do limite máximo legal.

Castro et al. (2012) analisaram amostras de queijos tipo mussarela e constataram que 33% apresentaram resultados positivos de *Salmonella spp.*, resultado semelhante ao estudo de Santana et al. (2008), realizado em Aracaju com queijos coalho, onde encontraram 26,7% de amostras acima do valor de referência para este microrganismo e superior a Oliveira, Bravo e Tonial (2012), em estudo com queijos tipo colonial, que encontraram 12,5% de *Salmonella spp.*, nas amostras. Nesse estudo todas as amostras apresentaram-se isentas de *Salmonella spp.*, resultado semelhante ao encontrado por Galinari et al. (2014) e Zocche,

Barcellos e Bersot (2011) em amostras de queijos artesanais produzidas em duas regiões da serra de Minas Gerais.

A média da atividade de água e pH ficou de acordo com preconizado pelo regulamento de inspeção industrial e sanitária no trabalho de Almeida Filho (1999), para ambos os tipos de inspeção de queijos. Tanto a atividade de água quanto o pH interferem na sobrevivência e no crescimento de microrganismos patogênicos como *Staphylococcus coagulase positiva* (FEITOSA et al., 2003). Milani (2003) sugeriram que quanto mais elevado o pH e a atividade de água no alimento, maior é a probabilidade proliferação microbiana.

A média de *Staphylococcus coagulase positiva* observada foi significativamente superior entre os queijos com Inspeção Estadual, assim como a presença de *Staphylococcus coagulase positiva* e de coliformes termotolerantes. Este resultado sugere a necessidade de um controle mais rigoroso sobre estes produtos, visto que os serviços de inspeção têm como objetivo controlar a qualidade dos produtos de origem animal, como embutidos cárneos, queijos, ovos, mel e compotas, monitorando e inspecionando a sanidade do rebanho, o local e a higiene das indústrias, certificando com selo de garantia os produtos. A Inspeção Municipal atua fiscalizando o comércio de produtos dentro dos municípios, enquanto que a Inspeção Estadual fiscaliza o comércio intermunicipal (BRASIL, 1989). Estes resultados podem estar indicando distintos níveis e métodos na fiscalização dos diferentes órgãos responsáveis, além de sugerir que nos Municípios a fiscalização esteja atuando de forma mais próxima aos estabelecimentos, facilitando assim a orientação sobre as boas práticas de fabricação aos manipuladores e responsáveis pelas empresas.

Um estudo realizado no Município de Santa Helena/PR, com amostras de queijos tipo Minas Frescal, inspecionadas pelo serviço Estadual e Federal, e não inspecionados, apresentaram 25% de contaminação com *Staphylococcus coagulase positiva*, nas amostras inspecionadas, porém as que não tiveram inspeção apresentaram 100% de *Staphylococcus coagulase positiva* presente nas amostras artesanais de queijo (PINTO et al., 2011). O *Staphylococcus coagulase positiva* é proveniente de cortes ou machucados humanos e oferece grande risco de contaminação ao produto. Uma vez que o alimento contaminado é ingerido podem ocorrer sintomas como vômitos e dores abdominais (FRANCO, 2002).

Verificou-se que 61,5% do total das amostras com Inspeção Estadual e 18,2% com Inspeção Municipal apresentaram-se em desacordo com a legislação em relação aos

coliformes termotolerantes, resultados inferiores aos de Pinto et al. (2011), que demonstraram que 100% das amostras de queijos Minas Frescal produzidos artesanalmente e sob inspeção apresentaram coliformes termotolerantes acima do preconizado. Em estudo realizado por Feitosa et al. (2003), foi verificado que 36,4% dos queijos tipo coalho possuíam presença de coliformes termotolerantes. Destaca-se que este grupo microbiano está presente na flora intestinal de humanos e animais sendo um indicador de contaminação fecal (JAY, 2000). Rahimi (2013), estudando a enterotoxigenidade de *Staphylococcus aureus* em produtos lácteos comerciais, encontrou 11,1% das amostras de queijos positivas para esse patógeno, possivelmente pelo uso de leite não pasteurizado, além da produção de alimentos em locais insalubres sem cuidados de manipulação e armazenamento (ZOCCHÉ; SILVA, 2012).

4.2. Análises de amostras de linguças produzidas no Vale Taquari

A Tabela 5 apresenta a concentração de nitrito e nitrato nas 33 amostras de linguças avaliadas nesse estudo. No total, 30,3% das amostras apresentaram teor de nitrito e 69,7% apresentaram teor de nitrato acima do previsto pela legislação brasileira. Contudo, neste estudo, verificou-se que 54,5% das amostras apresentaram nitrito acima do permitido e 100% das amostras apresentaram nitrato acima do permitido em pelo menos um dos lotes analisados.

O estudo ainda observou que 50% das amostras apresentaram diminuição nas concentrações de nitrito e 40% de nitrato após 30 dias de armazenamento, assim como demonstrou a existência de uma diminuição do teor de nitrito e nitrato nos primeiros 14 dias em relação aos 7 primeiros e um aumento significativo da média de nitrato na linguça no 30º dia em relação a análise realizada no 14º dia, entretanto o aumento de nitrito neste período não foi significativo (TABELA 6).

Tabela 5 - Concentração de nitrito e nitrato em mg/kg nas diferentes amostras de linguças produzidas no Vale do Taquari (RS) (n=33)

Código	Nitrito (mg/kg)				Nitrato (mg/kg)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média
1	195,9*	268,74*	13,13	159,26*	639*	703,75*	438,62*	593,79*
2	7,97	52,09	8,42	22,82	785,34*	553,59*	42,48	460,47*
3	10,96	62,4	6,28	26,54	663,3*	868,38*	523,67*	685,12*
4	89,88	320,74*	167,86*	192,82*	300,27*	287,77	220,91	296,65
5	44,48	42,84	5,25	30,86	87,38	469,1*	85,34	213,94
6	9,76	370,45*	21,02	133,74	447,19*	491,61*	519,94*	486,25*
7	450,51*	573,59*	449,27*	491,12*	62,14	526,22*	102,15	230,17
8	17,66	2,23	14,21	11,36	207,61	110,52	500,12*	272,75
9	138,63	102,67	239,35*	160,22*	734,89*	665,93*	774,53*	725,11*
10	33,68	78,83	878,09*	330,2*	446,25*	343,01*	127,28	305,51*
11	13,61	4,69	22,23	13,51	632,9*	437,43*	598,38*	556,23*

*Valores acima do valor de referência para nitrito de 150 mg/kg e de nitrato 300 mg/kg.

Fonte: Da autora (2015).

Tabela 6 - Concentração de nitrito e nitrato em amostras de linguças de acordo com o tempo de armazenagem (n=33)

Analito	Tempo de Armazenagem (dias)		
	7	14	30
Nitrito (mg/kg)	157,05 ±205,5	74,36±88,19	116,51 ±115,16
Nitrato (mg/kg)	393,38 ^{AB} ±180,26	347,33 ^A ±228,36	464,46 ^B ±342,63

Os resultados são apresentados como média ±desvio padrão. Teste não-paramétrico de Wilcoxon. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si $p \leq 0,05$.

Fonte: Da autora (2015).

Em relação à atividade de água e pH, 100% e 96,97% das amostras, respectivamente, estavam em conformidade com os parâmetros legais. Apenas 3,03% (n=1) das linguças apresentou pH acima da referência. A Tabela 7 mostra as médias de atividade de água e do teor de nitrato significativamente acima do valor de referência. Enquanto a média de pH não demonstrou diferença significativa em relação ao valor de referência.

Tabela 7 - Comparação entre as médias de pH, nitrito, nitrato e atividade de água com os valores de referência em linguiças produzidas no Vale do Taquari (RS) (n=33)

Variável	Média (DP)	Mediana	Referência	P
pH	5,59 ±0,21	5,56	5,4 - 6,2	>0,05**
Atividade de água	0,94 ±0,01	0,95	0,6 - 0,7	≤0,01*
Nitrito	142,96 ±203,45	44,48	150 mg/kg	NSA
Nitrato	436,28 ± 239,79	469,10	300 mg/kg	≤0,05*

Teste t-student. *Resultado significativo. ** Resultado não-significativo. DP: Desvio-padrão.

Fonte: Da autora (2015).

Dentre as amostras analisadas 54,5% e, 36,4% das amostras apresentaram coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva*, acima do valor de referência, assim como 9,1% das amostras apresentaram a presença de *Salmonella spp.*, não sendo observada diferença significativa para os valores encontrados em relação ao valor de referência, conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 - Comparação de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella spp.* com o valor de referência em linguiças produzidas no Vale do Taquari (RS) (n=11)

Variável	Referência	n	%	P
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Acima da referência	4	36,4	0,655
	Abaixo da referência	7	63,6	
Coliformes Termotolerantes	Acima da referência	6	54,5	0,248
	Abaixo da referência	5	45,5	
<i>Salmonella spp.</i>	Ausência	10	90,9	NSA
	Presença	1	9,1	

Teste não paramétrico Wilcoxon. NSA – não se aplica o teste, pois houve apenas 1 caso com presença de *Salmonella spp.* Referência: RDC nº 12 (BRASIL, 2001); n = número de casos em número absoluto; % = percentual.

Fonte: Da autora (2015).

Do total das amostras de linguiças analisadas, 30,3% apresentaram teor de nitrito e 69,7% apresentaram teor de nitrato acima do previsto pela legislação brasileira, resultados diferentes dos foram encontrados no estudo de Oliveira et al. (2013), onde 7,1% das amostras de linguiça apresentaram quantidades maiores que o valor de referência de nitrito e nitrato. Segundo a Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998, do MAPA, o limite de nitrito estabelecido para produtos cárneos é de 0,015g/100g e de nitrato é de 0,03g/100g (BRASIL, 1998). Também foi verificado que 54,5% e 100%, das amostras, apresentaram nitrito e nitrato

acima do permitido, em pelo menos um dos lotes de cada empresa analisada, resultados semelhantes a Oliveira et al. (2013). Como as análises foram realizadas em três lotes distintos, de cada empresa, foi possível observar que tais estabelecimentos não utilizam padrão de adição de sais de nitrito e nitrato, uma vez que o resultado da análise apresentou grande variação entre os lotes do mesmo produto e estabelecimento.

O estudo ainda observou que 50% das amostras apresentaram diminuição nas concentrações de nitrito e 40% de nitrato após 30 dias de armazenamento, resultados diferentes foram encontrados por Stieven e Souza (2012), onde 100% das amostras apresentaram redução considerável nos níveis de nitrito e nitrato. No processo de cura dos produtos cárneos, os teores de nitrito e nitrato tendem a diminuir após algum tempo de armazenamento, porque tanto o nitrito quanto o nitrato se convertem em outras substâncias. O nitrito é fonte de óxido nítrico, agente fixador de cor. Em meio ácido o nitrito libera ácido nitroso, que se decompõe em óxido nítrico e se fixa na mioglobina. O nitrato, por sua vez, se reduz a nitrito, segundo Perry (2004), com formação de nitrosaminas, que são substâncias potencialmente cancerígenas (GAZIANO; GALEA; REDDY, 2007).

Os sais de nitrito e nitrato podem causar inúmeros malefícios à saúde humana. Quando consumidos em pequenas doses causam dor de cabeça, desconforto gastrointestinal e endurecimento da face e extremidades. Em doses mais elevadas, os sintomas podem ser ainda mais graves, podendo, inclusive, causar alguns tipos de câncer (DELLAVALLE et al., 2014). Um estudo mostrou que a ingestão de nitrito de fontes animais foi associado ao risco aumentado de carcinoma de células renais, especialmente adenocarcinomas de células claras (DELLAVALLE et al., 2013). Catsburg et al. (2014) associaram a ingestão de nitrato de carnes curadas com aumento significativo do risco de câncer de bexiga. Outro estudo associou a ingestão de nitrito com carcinoma de esôfago em homens, mas, em mulheres, os níveis de exposição foram menores e não encontraram associações positivas (KESZEI et al., 2013). Segundo Dutra, Rath e Reyes (2007) existe relação entre o consumo excessivo de carnes curadas durante a gestação com o risco de tumor cerebral em crianças. Um estudo que avaliou a associação entre a ingestão de nitrito e nitrato e risco de câncer colorretal mostrou que o consumo de nitrato não foi associado com risco para câncer colorretal em mulheres, no entanto, entre as mulheres com ingestão de vitamina C abaixo da mediana (83,9 mg/dia) e, com isso, maior exposição ao óxido nítrico, o risco para câncer colorretal aumentou nos quintis crescentes do consumo de nitrato (DELLAVALLE et al., 2014).

A ocorrência da diminuição das médias do teor de nitrito e nitrato nos primeiros 14 dias, em relação aos 7 primeiros, e um aumento significativo da média de nitrato na linguiça no 30º dia, em relação a análise realizada no 14º dia, assim como o aumento de nitrito neste período, podem ser explicados pelo fato de não ter ocorrido condições favoráveis para que houvesse a redução do nitrato e do nitrito no próprio alimento em função das condições de temperatura e armazenamento que o mesmo oferecia (GONÇALVES et al., 2011; JAY; TONDO, 2005). A elevação dos valores de nitrato nas amostras ocorre em decorrência da oxidação do nitrito em nitrato (STIEVEN; SOUZA, 2012). Para Honikel (2008), essa reação se explica porque o nitrato de sódio foi encontrado em concentrações consideráveis em produtos cárneos nos quais apenas o nitrito foi adicionado.

A RDC nº 12, do Ministério da Saúde (MS), estabelece, para produtos cárneos embutidos, o limite máximo de 10^3 nmp/g para termotolerantes, $5,0 \times 10^3$ ufc/g para *Staphylococcus coagulase positiva* e ausência de *Salmonella spp.* (BRASIL, 2001). Contudo, observou-se que 54,5% de amostras de linguiças apresentavam valores superiores ao recomendado de coliformes termotolerantes, resultado superior ao estudo de Oliveira et al. (2013), que demonstraram que 14,3% das amostras estavam contaminadas, Marques et al. (2006) que observaram 35% das amostras contaminadas e Chaves et al. (2000), apresentaram 33% das amostras com índices de coliformes termotolerantes acima dos valores de referência preconizados pelo MS. Já Barbosa et al. (2003) encontraram 68% e Marques et al., (2006) 65% das amostras contaminadas, valores superiores ao encontrado nesse estudo. É importante destacar que os coliformes termotolerantes servem como indicador higiênico-sanitário e, quando em níveis inadequados, podem causar danos à saúde do consumidor, tais como diarreia, vômitos, febre e dor abdominal. Estão presentes exclusivamente no trato intestinal (BEZERRA et al., 2012), portanto é de fundamental importância que estas indústrias observem e respeitem as boas práticas de fabricação para garantir a não contaminação do produto.

Staphylococcus coagulase positiva acima do valor de referência foi identificado em 36,4% das amostras de linguiça do presente estudo, resultados semelhantes ao estudo realizado por Marques et al. (2006), que encontraram 35% das amostras não conformes à legislação. E inferior ao resultado do estudo de Zocche, Barcellos e Bersot (2011), que encontraram 61,8% das amostras de salame estudadas contaminadas. Chaves et al. (2000) demonstraram que 65% de suas amostras estavam contaminadas por *Staphylococcus coagulase positiva* acima do valor de referência. O *Staphylococcus coagulase positiva*

geralmente é proveniente da matéria-prima e da manipulação por pessoas portadoras do microrganismo. Quando o alimento contaminado é ingerido pode ocasionar sintomas como vômitos e dores abdominais (FRANCO, 2002).

Em relação à *Salmonella spp.*, no estudo de Tessmann et al. (2001) foram encontrados 20%, Bezerra et al. (2012), 17,85%, Silva et al. (2002), 17,8%, de amostras de linguiças investigadas contaminadas, resultados superiores ao atual estudo, que demonstrou 9,1% de contaminação. Já Daguer et al. (2011), observaram índices de 3,8% de contaminação, inferiores ao presente estudo. A *Salmonella spp.* é transmitida ao homem por meio da ingestão de alimentos contaminados por fezes de animais. Os alimentos contaminados apresentam cheiro e textura normal e são, em sua maioria, alimentos de origem animal. A *Salmonella* é eliminada quando o alimento é bem cozido. Em geral, a contaminação por *Salmonella* faz com que o paciente sinta fortes dores abdominais, diarreia e febre. Se a infecção difundir para o sangue ou outros tecidos pode levar à morte (OLIVEIRA et al., 2013).

O desenvolvimento microbiano é favorecido por características como a alta disponibilidade de água e pH próximo a neutralidade (CONTRERAS et al., 2002). A atividade de água é a medida mais acurada para determinar a possibilidade de crescimento microbiano (BELL; LABUZA, 1992). No presente estudo, a média de atividade de água mostrou-se significativamente acima do valor de referência de 0,7, o que pode explicar o alto índice de contaminação microbiana nas amostras, mesmo com a média da concentração de nitrato significativamente acima do recomendado que é de 300 mg/kg. Em relação ao pH, apenas uma das amostras estavam acima da normalidade de 5,4 - 6,2, resultado semelhante ao de Bezerra et al. (2012). Segundo Almeida (2005), o valor do pH da carne tem grande importância, uma vez que influencia na microbiota do produto. Cabe lembrar que o produtor tem responsabilidade sobre o produto e que o mesmo deve seguir e respeitar a legislação brasileira e, com isso, garantir a segurança alimentar dos consumidores (RODRIGUES et al., 2012).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como aspectos positivos deste estudo, pode-se descrever a importância dos queijos e linguiças na cultura local, e, por esse motivo, foram escolhidos os produtos comercializados regionalmente para análise, com o intuito de mensurar os reais riscos para saúde da população residente no Vale do Taquari. Por outro lado, nossos resultados podem não refletir a realidade de outras regiões, portanto é necessário mais estudos sobre os teores de nitritos e nitratos, assim como segurança microbiológica dos alimentos em outras regiões.

O estudo demonstrou que a totalidade das amostras de queijo analisadas apresentou concentrações acima do recomendado pela legislação para nitrito e um terço apresentou-se não conforme em relação à concentração de nitrato. Sendo que o queijo do tipo Prato demonstrou maior percentual de amostras não conformes em relação ao tipo Colonial. Já em relação à atividade de água e o pH, a maioria das amostras encontrou-se de acordo com o preconizado pela legislação nos queijos analisados. As amostras de queijo produzidas com Inspeção Estadual apresentaram resultados mais preocupantes em relação à contaminação por *Staphylococcus coagulase positiva* e coliformes termotolerantes quando comparados à Inspeção Municipal.

Em relação à linguiça, o estudo mostrou inadequação em relação ao que é determinado pela legislação brasileira sobre a quantidade de nitrito e nitrato, parâmetros microbiológicos de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella spp.*, e a atividade de água, e adequação em relação ao pH. Os estabelecimentos não apresentaram padrão de produção do produto e as diferenças de teor de nitrato e nitrito entre os lotes da mesma empresa possivelmente sejam provenientes de falhas nos procedimentos operacionais de produção.

Sendo assim, quanto à qualidade dos produtos pesquisados, os dados indicam que estes podem causar riscos de natureza química e microbiológica aos consumidores, ficando evidente a necessidade de conscientização e treinamento dos produtores e manipuladores dos alimentos, responsáveis por estes estabelecimentos, visto que a responsabilidade é do produtor. Além disto, este, precisa se adequar a um sistema de produção que se fundamente nas ferramentas de segurança alimentar. À Vigilância Sanitária cabem as orientações ao produtor sobre os procedimentos para eliminar, reduzir ou prevenir riscos à saúde decorrentes da produção, da circulação de bens e da prestação de serviços.

6 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

Como perspectivas de continuação deste estudo, sugere-se a elaboração de uma tabela de composição de nitritos e nitratos dos alimentos de origem cárneos, lácteos e vegetais produzidos na região, para ser usado como referência para orientações de profissionais na saúde humana.

No momento já estamos dando continuidade às pesquisas vinculadas à tese com estudos de análise de nitratos e nitritos em amostras de salsichas.

REFERÊNCIAS

- AHLERT, L. **Estratégias para a pequena produção agropecuária com base no mercado consumidor do Vale do Taquari**. Dissertação (Mestrado). Santa Maria: UFSM, 2001.
- ALMEIDA FILHO, E. S. **Características microbiológicas do queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente e comercializado no Município de Poços de Caldas-MG**. 1999. p. 60. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, Unesp, Jaboticabal, 1999.
- ALMEIDA, O. C. **Avaliação físico-química e microbiológica de lingüiça toscana porcionada e armazenada em diferentes embalagens, sob condições de estocagem similares às praticadas em supermercados**. 2005. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2005.
- ANDRADE, R. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato e nitrito e N-nitrosaminas em produtos cárneos**. 2004. 201 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Analítica da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- ANTÓN, A.; LIZASO, J. **Nitratos, nitritos y nitrosaminas**. Madrid: Fundacion Iberica para La Seguridad Alimentaria, 2001.
- APPEL, L. J. et al. DASH Collaborative Research Group. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. **N Engl J Med**. v. 336, p. 1117-24, 1997.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1999.
- ARAÚJO, P. F.; RODRIGUES, R. S. Nitratos, nitritos, nitrosaminas e seus efeitos sobre o organismo humano. **Revista Higiene Alimentar**, v. 22, n. 160, p. 54-8, 2008.
- ASCHEBROOK-KILFOY, B. et al. Epithelial ovarian cancer and exposure to dietary nitrate and nitrite in the NIH-AARP Diet and Health Study. **Eur J Cancer Prev.**, v. 21, n. 1, p. 65-72, 2012.

BARBOSA, M. B. C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de linguiças frescas de carne suína no município de Sete Lagoas. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 104/105, p. 20-21, 2003.

BASTIDE, N. M. et al. A central role for heme iron in colon carcinogenesis associated with red meat intake. **Cancer Res.**, v. 75, n. 5, p. 870-879, 2015.

BASTOS, M. et al. Inspeção em uma indústria produtora de queijo tipo coalho no estado do Ceará, visando a implantação das boas práticas de fabricação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, p. 130-136, 2001.

BELL, L. N., LABUZA, T. P. Compositional Influence on the pH of Reduced-Moisture Solutions. **J Food Science**. v. 57, n. 3, p. 732-734, 1992.

BEZERRA, M. V. P. et al. Avaliação microbiológica e físico química de linguiça toscana no município de Mossoró, RN. **Arq Inst Biol**. v. 79, n. 2, p. 297-300, 2012.

BISWAS, S.; CHOWDHURY, B.; RAY, B.C. A novel spectrofluotimetric method for the ultra trace analysis of nitrite and nitrate in aqueous medium and its application to air, water, soil and forensic sample. **Talanta**. v. 64, n. 2, p. 308-312, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) – **Instrução Normativa nº 4**. Anexo III - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça. D.O.U., 05 de abril de 2000. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa>>. Acesso em: 10 jan. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998**. (Republicada no DOU. DE 22/03/99).

BRASIL. **Lei nº. 7.889 de 23 de novembro de 1989**. Dispõe sobre a Inspeção sanitária e industrial de Produtos de Origem Animal. Secretaria de Inspeção de Produto animal. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Ministério da Agricultura. 1989.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Portaria nº 146 de 07 de março de 1996**. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 07 mar 1996. Seção 1, p. 3977.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Portaria nº 358 de 04 de setembro de 1997**. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Prato. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 08 set. 1997. Seção 1, p. 19.690.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 62 de agosto de 2003**. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999**. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel –

PCRM, Leite – PCRL e Pescado – PCRP. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 3 ago 2000. Seção 1, p. 7-12.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 12, de 10 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Brasília, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos –VE- DTA**. 2014. Disponível em: <http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3_PAINEL_1_ApresentacaoRejaneAlvesVigilanciaEpidemiologica-VE-DTA-Agosto_2014_PDF.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. **Regulamento técnico sobre atribuição de função de aditivos, aditivos e seus limites máximos de uso para carne e produtos cárneos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 14 de dezembro de 1998.

BRYAN, N. S. et al. Dietary nitrite restores NO homeostasis and is cardioprotective in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 45, p. 468-74. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18501719>>. Acesso em: 10 out. 2013.

CÂMARA, S. A. V. **Surtos de Toxinfecções Alimentares no Estado de Mato Grosso do Sul, 1998-2001**. 2001, 79f. Monografia (Especialização em Saúde Pública) - Escola de Saúde Pública Dr. Jorge David Nasser, Campo Grande.

CASTRO, A. C. S. et al. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de queijos do tipo mussarela comercializados no Ceasa de Vitória da Conquista - BA. **Alim. Nutr.**, v. 23, n. 3, p. 407-413, 2012.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. Pesquisa de *Listeria spp.*, coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). **Cienc. Tecnol. Aliment**. v. 21, p. 281-287, 2001.

CATSBURG, C. E. et al. Dietary sources of N-nitroso compounds and bladder cancer risk: findings from the Los Angeles bladder cancer study. **Int J Cancer**. v. 134, n. 1, p. 125-135, 2014.

CDC- Centro de Controle e Prevenção de Doenças. **Salmonellosis**. 2009. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/salmonellosis/>>. Acesso em: 15 jul. 2015.

CHAVES, G. M. C. et al. Avaliação bacteriológica de linguiça frescal suína comercializada no município do Rio de Janeiro, RJ. **Hig Aliment**. v. 14, n. 73, p. 48-52, 2000.

CHEVALLIER, I. et al. Microbial ecology of a small-scale facility producing traditional dry sausage. **Food Control**, [S.l.], v. 17, n. 6, p. 446-453, June 2006.

CLYDESDALE, F. M.; FRANCIS, F. J. Pigments: In: Fennema, O. R. ed. Principles of Food Science. Part I. **Food Chemistry**, v. 4, p. 393-402, 1976.

CONTRERAS, C. J. et al. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Varela, 2002.

CORREIA, M. et al.. **Contribution of different vegetable types to exogenous nitrate and nitrite exposure**. Editora: Elsevier . Food Chemistry, 2010, v. 120.

CORREIA, M.; RONCADA, MJ. Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 31, p. 296-301, 1997.

COVENTRY, J.; HICKEY, M. W. Growth characteristics of meat starters cultures. **Meat Sci.**, v. 29, n. 30, p. 41-48, 1991.

DAGUER, H. et al. Qualidade de produtos cárneos fabricados sob inspeção federal no estado do Paraná. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 359-364, 2011.

DELLAVALLE, C.T. et al. Dietary intake of nitrate and nitrite and risk of renal cell carcinoma in the NIH-AARP Diet and Health Study. **Br J Cancer**. v. 108, n. 1, p. 205-12, 2013.

DELLAVALLE, C. T. et al. Dietary nitrate and nitrite intake and risk of colorectal cancer in the Shanghai Women's Health Study. **Int J Cancer**. v. 134, n. 12, p. 2917-26, 2014.

DIAS, R. P.; DUARTE, T. F. **Processamento de Linguiça Frescal e Defumada de Caprinos e Ovinos: Prática/Processo Agropecuário Embrapa - Comunicado Técnico 78**. Nov. 2007. Disponível em: <<http://www.cnpq.embrapa.br/admin/pdf/0134440012154.cot78.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2013.

DUARTE, M. T. **Avaliação de teor de nitrito e nitrato de sódio em linguças do tipo frescal cozida e comercializada no estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2010. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina veterinária da Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2010.

DUNCAN, C. et al. Protection against oral and gastrointestinal diseases: importance of dietary nitrate intake, oral nitrate reduction and enterosalivary nitrate circulation. **Camp Biochem Physiol**. v. 118, n. 4, p. 939-48, 1997.

DUNCAN, C. L.; FOSTER, E. M. Role of curing agents in the preservation of shelf-stable canned meat products. **Appl. Microbiol**. v. 16, p. 401-405, 1968.

DUTRA, C. B.; RATH, S.; REYES, F. G. R. Nitrosaminas voláteis em alimentos. **Alim. Nutr. Araraquara**. v. 18, n. 1, p. 111-120, 2007.

FDA- **Food and Drug Administration Bad bug book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins**. 2. ed. 2012.

FEITOSA, T. et al. Pesquisa de *Salmonella sp.*, *Listeria sp.* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas. v. 23, p. 162-165, 2003.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FRANCO, B. D. G. et al. **Foodborne Disease in Southern South America**. FDA, 2002, in press.

FRANCO, R. M. **Escherichia coli**: ocorrência em suínos abatidos na Grande Rio e sua viabilidade experimental em linguiça frescal tipo toscana. 2002. 144f. Tese (Doutorado). Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense: Universidade Federal Fluminense; 2002.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1999.

FRIDMAN, A. L; MUKHAMETSHIN F, M.; NOVIKOV, S. S. Advances in the chemistry of aliphatic N-nitrosamines. **Russian Chemical Reviews**, v. 40, p. 30, 1971.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos**: causas e prevenção. São Paulo (SP): Fonte Comunicação e Editora; 1999. p. 176.

GALINARI, E. et al. Microbiological aspects of the biofilm on wooden utensils used to make a Brazilian artisanal cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 45, n. 2, p. 713-720, 2014.

GAZIANO, T. A.; GALEA, G.; REDDY, K. S. Scaling up intervention for chronic disease prevention: the evidence. **The Lancet**. v. 370, p. 1939-46, 2007.

GEORGE, T. W. et al. Effects of acuteconsumption of a fruit and vegetable purée-baseddrink on vasodilation and oxidativestatus. **Br J Nutr**. v. 109, n. 8, p. 1442-52, 2013.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 4. ed. Barueri: Manole, 2013.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2008.

GILCHRIST, M. et al. Effect of dietary nitrate on blood pressure, endothelial function, and insulin sensitivity in type 2 diabetes. **Free Radic Biol Med**. v. 60, p. 89-97, 2013.

GOMES, R. A.; SILVA F. A. P.; MEDEIROS, U. K. L. Levantamento da disponibilidade e caracterização físico-química de queijos artesanal e industrial produzidos e comercializados no município de Currais Novos/RN. **IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN (CONGIC)**, Currais Novos/RN, v. 405, p. 414, 2013.

GONÇALVES, J. F. et al. Ocorrência de nitratos e nitritos em queijos minas frescal, mussarela, parmesão e prato. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo. v. 70, n. 2, p. 193-198, 2011.

GONTIJO, C. M.; BRANCO, A. B. A, Avaliação microbiológica do leite pasteurizado e de derivados do leite no Distrito Federal, janeiro/1990 a dezembro 1996. **Revista de Saúde do Distrito Federal**, v. 9, p. 27-32, 1998.

GUERREIRO, R. S.; SÁ, M. S.; RODRIGUES, L. A. P. Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador. **Rev Inter.** v. 5, n. 1, p. 77-91, 2012.

HARADA, M. M.; SILVA, M. L. Nitratos e Nitritos x Segurança alimentar. **Revista Nacional da Carne.** São Paulo: BTS. v. 27, n. 302, p. 105-106, 2002.

HECHELMAN, H.; LEISTNER, L. Hemmung von unerwünschtem schimmelpilzwachstum auf rohwurstendurch delvolid (Pimaricin). **Fleischwirtschaft.** v. 49, p. 1639-1641, 1969.

HENDLER, A. M. F. **Associação dos Municípios do Vale do Taquari.** 2012. Disponível em: <<http://www.cosemsrs.org.br/?menu=regionais®ional=3>>. Acesso em: 7 nov. 2012.

HERRMANN, S. S. et al. Dietary exposure to volatile and non-volatile N-nitrosamines from processed meat products in Denmark. **Food Chem Toxicol.** v. 16, n. 80, p. 137-143, 2015.

HOFFMANN, F. L. et al. Análise microbiológica e sensorial de linguiça de frango produzida artesanalmente. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos.** São Paulo, v. 14, n. 1, p. 40-45, 1996.

HONIKEL, K. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science.** v. 78, p. 68-76, 2008.

HORD, N.G, TANG, Y, BRYAN, N.S. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. **Am J Clin Nutr.** v. 90, p. 1-10, 2009.

JAKSZYN, P.; GONZALEZ, C. A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. **World J Gastroenterol.** v. 12, n. 27, p. 4296-303, 2006.

JAY, J. M. **Modern Food Microbiology.** Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000. p. 679.

JAY, J. M.; TONDO, E. C. **Microbiologia de alimentos.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KATAN, M.B. Nitrate in foods: harmful and healthy? **Am J Clin Nutr.** Editorial. v. 90, n. 11, p. 1-2, 2009.

KEEN, J. T. et al. Short-term dietary nitrate supplementation augments cutaneous vasodilatation and reduces mean arterial pressure in healthy human. **Am J Clin Nutr.** v. 100, n. 3, p. 891-900, 2014.

KELLY, J. et al. Effects of short-term dietary nitrate supplementation on blood pressure, O₂ uptake kinetics, and muscle and cognitive function in older adults. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** v. 304, n. 2, p. 73-83, 2013.

KESZEI, A. P. et al. Dietary N-nitroso compounds, endogenous nitrosation, and the risk of esophageal and gastric cancer subtypes in the Netherlands Cohort Study. **Am J Clin Nutr.** v. 97, n. 1, p. 134-46, 2013.

KILFOY, B. A. et al. Dietary nitrate and nitrite and the risk of thyroid cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. **Int J Cancer.** v. 129, n. 1, p. 160-72, 2011.

KNOBELOCH, L. et al. Blue babies and nitrate-contaminated well water. **Environ Health Perspect.**, v. 108, n. 7, p. 675-8, 2000.

KOMATSU, R. S. et al. Ocorrência de staphylococcus coagulase positiva em queijos minas frescal produzidos em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, Uberlândia (MG), v. 26. n. 2, p. 316-321, 2010.

KREUTZ, D.H. et al. Avaliação das concentrações de nitrito e nitrato em hortaliças produzidas em cultivos convencional e orgânico na região do Vale do Taquari – RS. UNOPAR. **Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 2, p. 105-10, 2012.

LARA, W. H.; TAKAHASHI, M. Y.; SILVEIRA, N. Determinação de nitritos e nitratos em conservas de carne. **Rev. Instituto Adolfo Lutz**, v. 38, p. 161-166, 1978.

LARSEN, F. J. et al. Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. **Acta Physiol.**, v. 191, p. 59-66, 2007.

LOH, Y. H. et al. NNitroso compounds and cancer incidence: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Norfolk Study. **Am J Clin Nutr.**, v. 93, n. 5, p. 1053-61, 2011.

LUNDBERG, J. O. et al. Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. **Cardiovasc Res.**, v. 89, n. 3, p. 525-32, 2011.

MARQUES, S. C. et al. Avaliação higiênico-sanitária de linguiças tipo frescal comercializadas nos municípios de Três Corações e Lavras MG. **Ciênc Agrotec.**, v. 30, n. 6, p. 1120-3, 2006.

MARTINEZ, A. et al. Methemoglobinemia induced by vegetable intake in infants in northern Spain. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.**, v. 56, n. 5, p. 573-7, 2013.

MARTINS, O. A.; GRANER, C. A. F. Determinações espectrofotométricas dos íons nitrito e nitrato em sais de cura. **PUBVET**, Londrina, v. 2, n. 18, p. 129-156, 2008.

MELO FILHO, A. B.; BISCONTINI, T. M. B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. **Ciênc Tecnol Aliment.**, v. 24, n. 3, p. 390-92, 2004.

MENDIS, S.; PUSKA, P.; NORRVING. **Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control**. B editors. World Health Organization, Geneva. 2011.

MILANI, L.I.G. Bioproteção em linguiças Brasil. Universidade Federal de Santa RS. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 2, p. 161-166, 2003.

MILLER, P. E. et al. Meat-related compounds and colorectal cancer risk by anatomical subsite. **Nutr Cancer**. v. 65, n. 2, p. 202-26, 2013.

MILKOWSKI, A. et al. Nutritional epidemiology in the context of nitric oxide biology: a risk-benefit evaluation for dietary nitrite and nitrate. **Nitric Oxide**, v. 22, n. 2, p. 110-119, 2010.

- MOHOROVIC, L.; MATERLJAN, E.; BRUMINI, G. Consequences of methemoglobinemia in pregnancy in newborns, children, and adults: issues raised by new findings on methemoglobin catabolism. **J Matern Fetal Neonatal Med.**, v. 23, n. 9, p. 956-9, 2010.
- MOREAU, R. L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B. **Toxicologia Analítica**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabarra Koogan, 2008.
- NASCIMENTO, T.S. et al. Metemoglobinemia: do diagnóstico ao tratamento. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, v. 58, n. 6, p. 651-664, 2008.
- NORMAN, G. H.; YAOPING, T.; NATHAN, S. B. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. **Am J Clin Nutr.** v. 90, p. 1-10, 2009.
- OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Sazonalidade como fator interferente na composição físico-química e avaliação microbiológica de queijos coloniais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 64, n. 2, p. 521-523, 2012.
- OLIVEIRA, E. et al. **Intoxicação alimentar por salmonela**. 2013. ABC da Saúde. Disponível em: <<http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?484>>. Acesso em: 13 jun. 2013.
- OLIVEIRA, M. J.; ARAÚJO, W. M. C.; BORGIO, L. A. Quantificação de nitrito e nitrato em linguiças do tipo frescal. **Ciênc Tecnol Aliment.**, v. 25, n. 4, p. 736-42, 2005.
- OMAR, S. A.; ARTIME, E.; WEBB, A. J. A comparison of organic and inorganic nitrates/nitrites. **Nitric Oxide**, v. 26, n. 4, p. 229-40, 2012.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Revista Química Nova**. v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.
- PINTO, F. G. S. et al. Qualidade microbiológica de queijo Minas Frescal comercializado no Município de Santa Helena, PR, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 78, n. 2, p. 191-198, 2011.
- POPPER, I. et al. Avaliação da formulação de linguiças tipo frescal coletadas no município de Londrina, quanto aos teores de gordura, proteína e água. **In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 17, 2000, Fortaleza, Resumos. Fortaleza. Anais: Ceará, 2000.
- PRESLEY, T. D. et al. Acute effect of a high nitrate diet on brain perfusion in older adults. **Nitric Oxide**, v. 24, n. 1, p. 34-42, 2011.
- RAHIMI, E. Enterotoxigenicity of Staphylococcus aureus isolated from traditional and commercial dairy products marketed in Iran. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 393-399, 2013.
- ROBERTS, T. A.; INGRAM, M. Tehe effect of sodium chloride, potassium nitrate and sodium nitrite on the recovery of heated bacterial spores. **J. Food Technology**, v. 1, p.147-163, 1996.
- RODRIGUES, W. et al. Determinação espectrofotométrica do íon nitrito em linguiça tipo frescal. **Revista Eletrônica de Educação e Ciência**, v. 2, n. 3, p. 6-11, 2012.

SALVADOR, M. et al. Avaliação microbiológica de queijo prato e parmesão ralado. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 65-74, 2001.

SANCHEZ-VALVERDE, F. et al. Methemoglobinemia induced by vegetable intake in infants in northern Spain. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.**, v. 56, n. 5, p. 573-77, 2013.

SANTANA, R. F. et al. Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 60, n. 6, p. 1517-1522, 2008.

SANTOS, J. S. et al. Nitrato e nitrito em leite produzido em sistemas convencional e orgânico. **Cienc Tecnol Aliment.**, v. 25, n. 2, p. 304-9, 2005.

SCANLAN, R. A. Formation and occurrence of nitrosamine in food. **Cancer Research**, v. 43, p. 2435-2439, 1983.

SCANLAN, R. A.; REYES, F. G. R. An update on analytical techniques for N-nitrosamines. **Food Technology**, v. 79, p. 95-99, 1985.

SCHIERHOLT, J. A. **Nossa terra, nossa gente – Histórias e Etnias**. 2012. Disponível em: <http://www.cicvaledotaquari.com.br/pagina_valores5.php>. Acesso em: 25 mai. 2015.

SERAPHIM, R. K.; SIQUEIRA, B. P. E. Nitratos e nitritos em queijos caseiros e industrializados comercializados na região Sul de Minas Gerais, **ALAN**, Caracas. v. 50, n. 1, 2000.

SILVA JR., Eneo Alves da. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 7. ed. São Paulo: Varela, 2014.

SILVA, W. P. et al. Qualidade microbiológica de linguças mistas do tipo frescal produzidas na cidade de Pelotas (RS). **B. CEPPA**, v. 20, n. 2, p. 257-266, 2002.

STIEVEN, A.; SOUZA, C. F. V. Variação das concentrações de nitrato e nitrito em linguça frescal, adicionadas de diferentes concentrações de eritorbato de sódio. **Revista Higiene Alimentar**, v. 26, n. 208/209, p. 180-6, 2012.

SWANN, P.F. The Toxicology of Nitrate, Nitrite and N-nitroso Compounds. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 26, p. 1761-1770, 1975.

TADDEI, J. A. A. C. et al. **Nutrição em saúde pública**. Rio de Janeiro. Rubio, 2011.

TAKAHASHI, G. Ingredientes e suas funções na fabricação de produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**, n. 199, ano XVII, p. 14-18. São Paulo, 1993.

TESSMANN, C. et al. Prevalência de Salmonella spp. e Staphylococcus aureus em linguças do tipo frescal derivadas de carne suína. **In: Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 21., 2001. Anais... [S.l.: s.n.], 2001. p. 390.

TORTORA, G.; FUNKE, B.; CASE, C. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TUTENEL, A. V. et al. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle pigs and chickens at slaughter. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 84, n. 1, p. 63-69, 2003.

VITTOZZI, L. Toxicology of nitrates and nitrites. **Food Additives and Contaminants**, v. 9, p. 579-585, 1993.

WATT, B. E. et al. Poisoning due to urea herbicides. **Toxicological Reviews**, v. 24, p. 161-166, 2005.

WEBB, A. J. et al. Acute Blood Pressure Lowering, Vasoprotective, and Antiplatelet Properties of Dietary Nitrate via Bioconversion to Nitrite. **Hypertension**, v. 51, p. 784-790. 2008.

WHO (A). **Global status report on noncommunicable diseases 2014**. World Health Organization, Geneva. 2014.

WHO (B). **World health report 2010: Health systems financing - the path to universal coverage**. World Health Organization, Geneva. 2014.

WHO. Cancer. **Key facts**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>>. Acesso em: 4 jun. 2015.

WHO. **Technical Report Series 859 - Evaluation of certain food additives and contaminants**. 44th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1996.

ZEMAN, C. L.; KROSS, B.; VLAD, M. A nested case-control study of methemoglobinemia risk factors in children of Transylvania, Romania. **Environ Health Perspect**, v. 110, p. 817-22, 2002.

ZHU, Y. et al. Dietary N-nitroso compounds and risk of colorectal cancer: a case-control study in Newfoundland and Labrador and Ontario, Canada. **Br J Nutr.**, v. 111, n. 6, p. 1109-17, 2014.

ZOCHE, F.; SILVA WP. PCR para detecção de *Staphylococcus*. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 23, n. 2, p. 187-193, 2012.

ZOCHE, F.; BARCELLOS, V.C.; BERSOT, L.S. Microrganismos indicadores e *Salmonella* sp. em salames produzidos e comercializados na Região Oeste do Paraná. **Rev. Bras. Tecnol. Agroind.**, v. 5, n. 1, p. 336-345, 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Produção gerada

ADAMI, F. S.; GIOVANAZ, L. S.; ALTENHOFEN, G.; BOSCO, S. M. D.; MARCADENTI, A.; OLIVEIRA, E. C. Análise microbiológica e de nitrito e nitrato em linguiça. **Scientia Plena**, v. 5, p. 1-7, 2015.

ADAMI, F. S.; BOSCO, S. M. D.; ALTENHOFEN, G.; SOUZA, C. F. V.; OLIVEIRA, E. C. Avaliação da qualidade microbiológica de linguiças e queijos. **Caderno Pedagógico** (Lajeado. Impresso), v. 12, p. 46-55, 2015.

APÊNDICE B - Artigos submetidos

ADAMI F.S; WEIZENMANN E.; ALTENHOFEN G.; DALBOSCO S. M.; OLIVEIRA E.C. Análise microbiológica e teor de Nitrito e Nitrato em queijos. **Scientia Plena**.

HENTGES D.; ZART N.; MARMITT L. G.; OLIVEIRA E. C.; ADAMI F. S. Avaliação das concentrações de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região do Vale do Taquari, RS. **Scientia Plena**.